



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

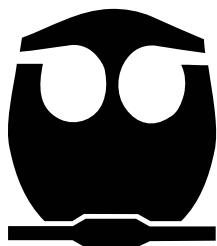
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**METODOLOGÍAS PARA ANALIZAR  
PLAGUICIDAS ORGANOCOLORADOS EN  
AGUA POR MEDIO DE CROMATOGRFÍA DE  
GASES**

**TRABAJO MONÓGRAFICO DE  
ACTUALIZACIÓN  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA**

**PRESENTA**

**MA. ROSA GONZÁLEZ TEPALE**



**MÉXICO, D. F.**

**2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Jurado asignado**

<b>Presidente</b>	Profa. Ernestina Cervera Flores
<b>Vocal</b>	Profa. Silvia de Jesús Mendoza Arellano
<b>Secretario</b>	Prof. Adolfo García Osuna
<b>1<sup>er</sup>. Suplente</b>	Prof. Francisco Rojo Callejas
<b>2<sup>o</sup>. Suplente</b>	Profa. Georgina Artemisa Duarte Lisci

### **Sitio en el que se desarrolló el tema:**

Departamento de Química Analítica.  
Edificio "A" Laboratorio 3B.  
Facultad de Química, Cd. Universitaria.

### **Asesor del tema**

-----  
Q. Adolfo García Osuna

### **Sustentante**

-----  
Ma. Rosa González Tepale

## *Agradecimientos*

*El primer agradecimiento es a Dios por concederme terminar esta etapa muy importante de mi vida, porque es la luz necesaria para evaluar con justicia mis actos, construir un presente y futura mejor, de forma honesta.*

*A mi familia por ser la base que me impulsa a trabajar todos los días, que me da esperanzas, consuelo en los momentos difíciles, en especial a mi mamá Piedad, porque gracias a su trabajo, esfuerzo, consejos y dedicación me ha ayudado a realizar parte de mis sueños. Gracias a mi hermano Bernabé por su cariño y apoyo durante todos estos años, a Elvis por ser mi hermana y mejor amiga. A mi hermana Piedad, del mismo modo a su esposo Luis, junto con mis sobrinos Andrea, Luis y Gael por sus sonrisas y alegrías.*

*Sin duda agradezco a mi tía Lulú y tío Alfredo porque contribuyeron a cambiar parte de mi realidad y me dieron la oportunidad de iniciar un proyecto de vida nuevo.*

*A Erick por su amor, cariño, por ayudarme y estar a mi lado en situaciones difíciles de crisis en mi persona, también por hacer muy divertida mi estancia en la Universidad.*

*Un sincero agradecimiento al Profesor Adolfo García Osuna por abrirme la puerta de su maravilloso laboratorio, ya que gracias a su apoyo y empeño por transmitirme parte de sus conocimientos pudo ser realidad la culminación de esta etapa académica, además de que me enseñó la importancia de abrir mi mente a conocimientos frescos y nuevos.*

*Agradezco a todas las personas que han contribuido de alguna forma en mi educación académica, especialmente a los profesores Benito, Carlos y Paz de la preparatoria, a la Dra. Marylú de la UNAM.*

*También agradezco a todos mis amigos y compañeros por las interminables pláticas que me sirvieron para aprender de la vida, ayudarme y hacer agradable mis estudios. En particular a LiLi y Jessi por su ayuda y por compartir sus conocimientos en el laboratorio.*

***“El conocimiento abre las puertas, tú decides si entras”***

## ÍNDICE

	Página
Capítulo I INTRODUCCIÓN	1
Capítulo II METODOLOGÍA	3
Capítulo III INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA Y DISCUSIÓN	6
Tema I: PLAGUICIDAS	7
-PLAGUICIDAS Y EL MEDIO AMBIENTE	8
-CLASIFICACIÓN	10
-PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS	13
-NORMATIVIDAD DE LOS LÍMITES PERMITIDOS DE PLAGUICIDAS EN AGUA	18
Tema II: METODOLOGÍA DE ANÁLISIS	21
-IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	21
-ELECCIÓN DEL MÉTODO A UTILIZAR	21
-MUESTREO	23
-PREPARACIÓN O TRATAMIENTO DE LA MUESTRA	29
-PROCEDIMIENTO ANALÍTICO	29
-TÉCNICA DE DETERMINACIÓN	56
-EVALUACIÓN DE RESULTADOS E INFORME	67
Capítulo IV CONCLUSIONES	71
BIBLIOGRAFÍA	77

# **CAPÍTULO I**

## **INTRODUCCIÓN**

# INTRODUCCIÓN

En general el uso de procedimientos de avanzada tecnología y el desarrollo de nuevos e ingeniosos métodos para resolver problemas analíticos requiere un adecuado conocimiento de la literatura existente, dónde aspectos como la velocidad de análisis, sensibilidad y selectividad se han convertido en factores importantes en la determinación de contaminantes. Es por ello que la escritura de esta tesis está enfocada a la revisión de los diversos métodos para la determinación de compuestos organoclorados en agua y dar a conocer las soluciones a las que han llegado para la identificación y cuantificación de la mayoría de estas sustancias, entre los métodos revisados se encuentran los de la American Stándar Methods (ASTM por sus siglas en inglés), Association of Official Analytical Chemistry (AOAC por sus siglas en inglés), métodos oficiales como la de la United States Environmental Protection Agency (USEPA por sus siglas en inglés) y métodos recogidos en revistas durante los últimos 5 años como Chemical Abstracts, Journal of Chromatography, Analytical Chemistry, etc. entre otros.

En este trabajo se busca plantear una explicación basada en indicar primero como una columna vertebral las etapas básicas que todo método analítico sigue modificadas éstas con lo observado al realizar la revisión bibliográfica. Posteriormente se definirá cada una de estas etapas y se dará la información teórica necesaria para entenderla y al final se planteará lo encontrado específicamente para el análisis de los plaguicidas organoclorados por cromatografía de gases en agua.

Esperamos que con este trabajo los alumnos y profesionistas que lo consulten se den una rápida idea de cómo se realiza el análisis de estos compuestos en agua.

# **CAPÍTULO II**

# **METODOLOGÍA**



## METODOLOGÍA

Para este trabajo monográfico se plantea el explicar las modificaciones realizadas a técnicas analíticas ya conocidas y la aplicación de técnicas nuevas desarrolladas en los últimos 5 años para mejorar las diferentes etapas en que se trabajan las metodologías establecidas normalmente para analizar plaguicidas organoclorados en agua, aplicando en la parte instrumental a la técnica de Cromatografía de Gases para su determinación tanto cualitativa como cuantitativa.

Para poder cumplir esto, al realizar la investigación bibliográfica se partió del principio de entender primero metodologías generales establecidas y que sean muy utilizadas a nivel mundial para dicho análisis, para ello se revisaron las metodologías de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica (United State Environmental Protection Agency, USEPA por su nombre y siglas en inglés) y por la Sociedad Americana de Evaluaciones y Materiales (American Society for Testing and Materials, ASTM por su nombre y siglas en inglés) para entender así las diferentes etapas generales en que estas metodologías se reportan, y que se mantienen en protocolos y procedimientos que trabajan los laboratorios de análisis.

La siguiente fase fue la documentación en publicaciones periódicas, la primera opción fue obviamente la revisión del Chemical Abstracts debido a que ahí se puede encontrar la mayor revisión de artículos de diferentes revistas publicados en inglés. En el manejo de Chemical Abstracts para este trabajo se realizó tanto bajo el formato de índices, el cual es adecuado cuando ya se conoce el registro de la publicación del artículo; y la otra opción fue el formato de resumen donde primero se realizó la búsqueda por palabras clave del tema de acuerdo al año para localizar el catálogo que contiene el resumen. A fin de hacer la búsqueda más eficiente se usaron variedades ortográficas de las palabras clave (en inglés) de tal forma que se tuviera un grupo de términos más especializado y controlado, como se puede ver en la tabla I.

<b>PALABRAS CLAVE</b>	Organochlorinated	Water	Chromatography
<b>VARIEDAD ORTOGRÁFICA</b>	Pesticides DDT Organic Semivolatile	Waste water Drinking water Sea water Ground water	Gas Chromatography

Tabla I.- Variedades ortográficas de las palabras claves

Para realizar el trabajo con el Chemical Abstracts se trabajaron como vías de acceso a esta revista, la Hemeroteca de la Facultad de Química y la base de datos de la Biblioteca Central de la UNAM. Una vez que se encontraron los resúmenes, se revisaron y si era de nuestro interés el artículo se buscó en bases de datos como la <http://www.dgbiblio.unam.mx> de la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM, la cual tiene acceso a una gran cantidad de revistas científicas y libros digitales.

También se procedió a revisar otras opciones de revistas periódicas especializadas en el área de la Química Analítica como las revistas Journal of Chromatography y Analytical Chemistry. La vía de acceso fue por internet en las siguientes páginas electrónicas:

<http://bidi.unam.mx/>, <http://www.sciencedirect.com/science/journal/>,  
<http://pubs.acs.org/>

y en caso de no tener acceso por esta vía a los artículos, se buscaron dichas revistas en las hemerotecas que las tuvieran.

También, durante la realización de esta revisión bibliográfica se encontró que muchas metodologías para determinar plaguicidas varían en la técnica para la preparación de la muestra por lo que hubo la necesidad de que además de realizar la búsqueda de los artículos se consultara la literatura especializada y general que permitiera entender cómo se trabajaban las técnicas analíticas mencionadas en dichos artículos. En esta parte se realizó la revisión de los libros en la Biblioteca de la Facultad de Química, en la Biblioteca de Posgrado de la Facultad de Química y en la Biblioteca Central de la UNAM, donde se cuenta con una buena base de datos.

También se realizó la revisión de algunas de las bases de datos de organismos gubernamentales relacionados de alguna forma con el agua y los plaguicidas en nuestro país, éstas fueron: CONAGUA, SEMARNAT, CICLOPLASFEST

Éstas se consultaron con el fin de saber que información tenían sobre metodologías establecidas para determinar plaguicidas en agua y si en caso de que existiera cual es su alcance y la normatividad que las rige.

Las fuentes antes mencionadas son de fácil acceso, sin embargo existe gran cantidad de literatura que en su búsqueda se encuentra que ésta no es muy accesible, entre ellos se tienen a: las actas de los congresos científicos, catálogos de compañías analíticas, así como publicaciones de dichas compañías relacionadas con el análisis químico (como Supelco, Perkin-Elmer, Agilent, etc). Como tal no se nombran en las referencias, pero sí de alguna forma su revisión ayudó a tener una mejor idea de las técnicas analíticas y de conocimientos existentes. Su acceso se da cuando se va a congresos, se tiene contacto con las empresas y trabajo en el laboratorio.

# **CAPÍTULO III**

## **INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA Y DISCUSIÓN**

# INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA Y DISCUSIÓN

En este capítulo se desarrollará la información obtenida sobre el tema y se discutirá en 2 grandes temas por su importancia para este trabajo, los plaguicidas y la metodología aplicada para su análisis. Esta última a su vez se divide en 7 grandes rubros que son los que marcan las metodologías que fueron revisadas como base para tratar de desarrollar el trabajo.

## TEMA I

### PLAGUICIDAS<sup>(1, 2, 3, 4)</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS, por sus siglas en inglés) y, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) definen el término plaguicida como cualquier sustancia o mezcla de ellas en diferentes estados físicos, destinadas a prevenir, combatir o controlar cualquier plaga, incluidos los vectores de enfermedades humanas y animales, así como las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran durante la producción, almacenaje, transporte, comercialización o procesado de alimentos para el hombre o animales.

Existen registros históricos que señalan que los plaguicidas en la agricultura se han usado desde épocas antiguas, ellos son conocidos como plaguicidas de primera generación, entre los que se encuentran: las cenizas, el tabaco, compuestos con Arsénico, Mercurio, Plomo, Azufre, etc. Los antiguos Egipcios alrededor de 1200 A.C. y 1000 A.C. sugieren el uso de Azufre para el control de ciertas plagas; los antiguos romanos también usaban Azufre pero para el control de los insectos, por otro lado en el siglo nueve los chinos usaban una mezcla de Arsénico con agua para combatir a los insectos. Por 1600 A.C. el tabaco se usó como insecticida de contacto contra insectos de la pera, y por 1773 se usó la nicotina para la fumigación. Incluso el Mercurio se utilizó para proteger a las semillas de los hongos en 1890.

Los primeros insecticidas y herbicidas orgánicos sintéticos fueron desarrollados a principios de 1900, conocidos como plaguicidas de segunda generación; esto precedió al subsiguiente descubrimiento y producción de cientos de plaguicidas orgánicos sintéticos a principios de 1940. Los hidrocarburos organoclorados como el Clordano, Aldrín, Dieldrín, Heptaclor se produjeron comercialmente en 1940, los organofosforados (Paratión, Malatión, entre otros) empezaron a producirse a principios de 1950, a finales de la misma década se desarrollaron los carbamatos que incluían insecticidas, herbicidas, y fungicidas.

Los plaguicidas están presentes en la vida cotidiana con el propósito de mejorar la calidad de vida de los humanos, animales y plantas. En lo que corresponde al sector agrícola, se usan desde el tratamiento a las semillas, pasando por las aplicaciones al suelo al momento de la siembra. Si se trata del sector pecuario existe la necesidad de combatir la garrapata del ganado y los piojos de las aves. En el sector de la salud para el combate de insectos y vectores de enfermedades, también los perros, los gatos y otros animales domésticos son sujetos de tratamientos con plaguicidas y por último en los hogares para combatir a las ratas, cucarachas, moscas y mosquitos.

En la figura 1 se ilustran las cantidades de herbicidas, fungicidas e insecticidas más usados por tres grupos principales en los Estados Unidos de Norteamérica.

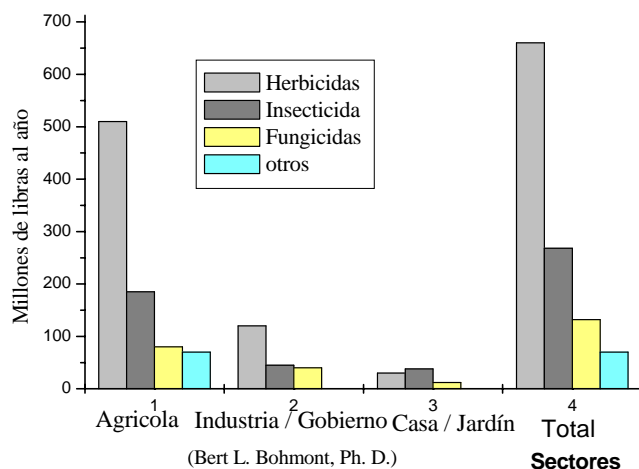


Figura 1.- Monto de plaguicidas usados en tres principales sectores en los Estados Unidos de Norteamérica<sup>(2)</sup>

A pesar de los temores y problemas reales que ello ha creado, los plaguicidas son responsables del bienestar físico de muchas personas y animales en el mundo; también han contribuido a que se tengan estándares de vida altos como en Estados Unidos de Norteamérica (USA por sus siglas en inglés), debido a la eficiencia en la producción alimentaria. En 1850 cada agricultor en USA producía suficiente comida para él y 3 personas más, cien años después (1960) era posible producir suficiente comida para él y 24 personas, 45 más para 1970 y 78 más en 1990. Para el 2000 cada agricultor necesita producir para más de 135 personas, ya que la población mundial se estima que es de más de 6 mil millones de personas. En el presente, hay una gran presión en la agricultura del mundo para incrementar su producción agrícola, para alimentar y vestir a la población extra debido a que los suministros de comida no son suficientes para satisfacer el hambre de la población en total, ya que hay pérdidas en la agricultura y competencia con nuevas plagas.

### **I.1.- PLAGUICIDAS Y EL MEDIO AMBIENTE<sup>(2, 3, 4)</sup>**

En el pasado, el problema de las plagas se había resuelto sin una apreciación completa sobre los efectos en plantas, animales y el medio ambiente y algunos de sus efectos han sido desafortunados. Hoy los científicos concuerdan que la primera regla en el control de plagas es reconocer que es un problema complejo, que involucra a sus depredadores naturales, a otras plagas y la relación de otros factores como el agua, aire, suelo, variedad de plantas, prácticas culturales, gente y vida silvestre. En general es deseable plaguicidas específicos para el control de plagas y que sean disponibles, pero el costo aumenta debido al intervalo de aplicación que llega a ser muy limitado y es claro que las diferentes especies responden no de la misma manera a la variedad de formas y concentraciones de los plaguicidas<sup>(2)</sup>.

La calidad del ambiente se ha convertido en un problema grave y por ello la urgencia de proteger a éste y a sus habitantes. Muchos de los que utilizan plaguicidas los consideran como una forma de preservar el ambiente, pero otros los citan al inicio de una lista de principales contaminantes, es difícil de distinguir el punto en el cual un plaguicida es considerado una herramienta benéfica o un contaminante. En general, los plaguicidas son un problema cuando se

dispersan fuera del área de interés y algunos presentan características de no biodegradables y son acumulables, lo que ha enfatizado el problema en el caso de derrames, falta de cuidado de las reservas acumuladas, de los contenedores vacíos, abuso en el uso de plaguicidas y falta de información sobre el uso de ellos.

Existen seis áreas principales, aparte del humano, que requieren protección. Estas áreas son: suelo, aire, insectos beneficiosos, plantas, vida silvestre y agua.

Suelos fértiles y sanos son un requerimiento absoluto para alimentar el creciente número de personas y para ello es necesario la ayuda de los plaguicidas, frecuentemente estos se adhieren a las partículas finas del suelo. Una dosis excesiva que permanezca en el suelo por grandes periodos de tiempo, daña a las plantas y microorganismos que son parte de su recuperación y el destino de los plaguicidas puede ser como los mostrados en la figura 2.

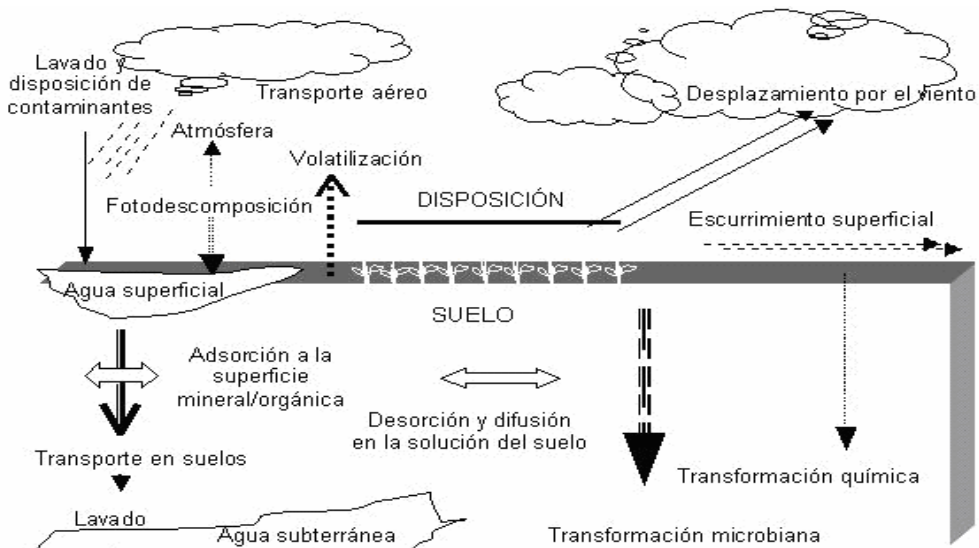


Figura 2.- Ciclo de un Plaguicida<sup>(2)</sup>

Por otro lado, el aire es necesario para las plantas y animales para vivir, tiene la habilidad de mover partículas largas distancias y la mayoría de las veces esta habilidad es aprovechada para la aplicación de plaguicidas, pero éstos no son controlables y pueden instalarse en el agua, áreas boscosas, áreas densamente pobladas o lugares alejados del lugar de aplicación como lo son las regiones polares, dando como resultado una contaminación de estos lugares. La principal fuente de contaminación del aire por plaguicidas es debida a la aplicación directa y aplicación aérea. La cantidad de plaguicida que entra a la atmósfera es determinada por el viento, condiciones de temperatura, la formulación del plaguicida, el tamaño de partícula, condiciones climáticas, aditivos, métodos de aplicación y tipo de compuesto aplicado.

No menos importante es la protección hacia insectos beneficiosos debido a que en algunos casos sin la polinización que llevan a cabo no habría cosechas, reduciendo la producción agrícola, con el resultado de un aumento del costo de los alimentos para los consumidores. Por otro lado, uno de los destinos de los plaguicidas es la protección de las plantas contra plagas como: insectos y hongos, pero también las pueden dañar provocándoles fitotoxicidad.

La vida silvestre también ha sufrido efectos por el uso de plaguicidas, debido a que los efectos tóxicos para cada animal es desconocido, lo que para unos pueden ser ligeramente tóxicos, para otros pueden ser muy tóxicos. Así como existen plaguicidas que no son persistentes

y se descomponen rápidamente en otros menos peligrosos, existen los que son persistentes como los organoclorados que se acumulan en la cadena trófica, que tardan años en descomponerse y son difíciles de eliminar ya que se acumulan en el tejido graso aumentando de manera progresiva a lo largo de la cadena alimenticia, principalmente en especies depredadoras (figura 3).

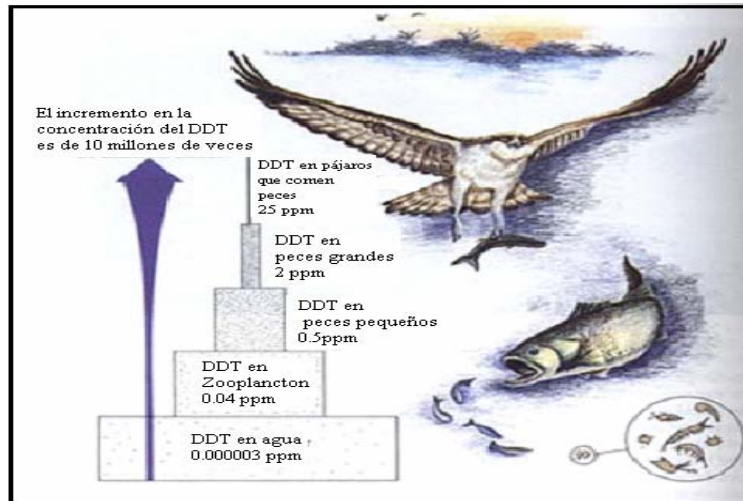


Figura 3.- Aumento de la concentración de DDT en la cadena alimenticia<sup>(5)</sup>

Finalmente, el agua es uno de nuestros más importantes recursos, sus propiedades y abundancia la hacen necesaria para todos los tipos de vida. El agua contaminada puede cubrir alguna de nuestras necesidades, pero no las más básicas. En general, toda forma de vida necesita agua limpia para sobrevivir. Los plaguicidas entran en el agua de diferentes formas: puede ser que se aplique directamente para el control de plantas acuáticas o animales, que entren al agua por accidente debido a que se han rociado algunas tierras cercanas, por lixiviación del suelo, arrastre por aire, precipitación atmosférica, etc., como se ve en la figura 2.

## I.2.- CLASIFICACIÓN<sup>(6)</sup>

Los plaguicidas se pueden clasificar de varias maneras, a continuación se presentan las más comunes, según el catálogo de La Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas<sup>(6)</sup> (CICLOPLASFEST por sus siglas).

### I.2.1.- Concentración

- Plaguicida técnico: la máxima concentración del ingrediente activo obtenida como resultado final de su fabricación, de la cual se parte para preparar un plaguicida formulado (NOM-045-SSA1-1993).
- Plaguicida formulado: mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes conocidos como “inertes”, cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo o hacerlo útil y eficaz; constituye la forma usual de aplicación de los plaguicidas (NOM-045-SSA1-1993).

### I.2.2.- Organismos que controlan

- Insecticida: Control de insectos.
- Acaricida: Control de ácaros.
- Fungicida: Control de hongos.
- Bactericida: Control de bacterias.

e) Herbicida: Control de hierba y maleza.

f) Rodenticida: Control de roedores.

g) Molusquicida: Control de moluscos.

### **I.2.3.- Modo de acción**

- a) De contacto: Actúa principalmente al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga.
- b) De ingestión: Debe ser ingerido por la plaga para su acción efectiva.
- c) Sistémico: Al aplicarse en plantas o animales, se absorbe y traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que se aplica y en los cuales actúa.
- d) Fumigante: Se difunde en estado gaseoso o de vapor y penetra por todas las vías de absorción.
- e) Repelente: Impide que las plagas ataquen.
- f) Defoliante: Causa la caída del follaje de las plantas.

### **I.2.4.- Composición química**

- a) Compuestos inorgánicos: Estos son compuestos que carecen de carbono (derivados de cobre, azufre, zinc y aluminio).
- b) Compuestos orgánicos: Contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético, algunos son extraídos de plantas y pertenecen a distintos grupos o familias químicas, que pueden tener características comunes y en cualquiera de ellos puede haber insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas u otros tipos de plaguicidas.
- c) Plaguicidas biológicos: Se llama así a los virus, microorganismos o sus metabolitos, formulados como insumos, que pueden controlar a una plaga en particular.

### **I.2.5.- Uso al que se destinan**

- a) Agrícolas: Uso en sistemas de producción agrícola, y en productos y/o subproductos de origen vegetal.
- b) Forestales: Uso en bosques y maderas.
- c) Urbanos: Uso exclusivo en áreas urbanas, industriales, áreas no cultivadas, drenajes, canales de riego, lagos, presas, lagunas y vías de comunicación.
- d) Jardinería: Uso en jardines y plantas de ornato.
- e) Pecuarios: Uso en animales o instalaciones de producción intensiva o extensiva cuyo producto será destinado al consumo humano o a usos industriales. Incluye el uso en animales domésticos.
- f) Domésticos: Uso en el interior del hogar.
- g) Industriales: Se utiliza como materia prima en el proceso industrial para la formulación de plaguicidas o productos de uso directo. (NOM-045-SSA1-1993, NOM-046-SSA1-1993).

### **I.2.6.- Clasificación de formulaciones por su estado físico**

- a) **Formulaciones sólidas**, las cuales pueden tener las siguientes formas.
  - Sólido técnico de gránulo fino técnico.
  - Polvo técnico de gránulo soluble.
  - Polvo pasta sólida.
  - Polvo humectable en perdigones o comprimidos.
  - Polvo micronizado y micro-encapsulado.
  - Polvo soluble en cebo envenenado.



- Tabletas o pastillas de bloque parafinado.
- Gránulo técnico de collares.
- Gránulo dispersable en jabón.

**b) Formulaciones líquidas, pueden ser:**

- Líquido técnico en disolución concentrada.
- Líquido sólo para coadyuvante en disolución concentrada técnica.
- Líquido viscoso técnico.
- Concentrado emulsionable.
- Líquido soluble.
- Emulsión o dispersión.
- Líquido miscible en pasta gelatinosa.
- Suspensión acuosa técnica.
- Concentrado para ultra-bajo-volumen.
- Disolución acuosa.

**c) Formulaciones gaseosas**

Las formulaciones gaseosas son gases licuados o comprimidos.

**I.2.7.- Clasificación de la toxicidad de los plaguicidas**

La clasificación de la toxicidad se realiza con base en la DL<sub>50</sub> expresada en mg/kg, que fue recomendada por la OMS en su vigésima octava asamblea. En este caso la DL<sub>50</sub> hace referencia a la obtenida en ratas cuando el plaguicida se administra por vía oral o dérmica, en forma aguda. Un concepto paralelo es la CL<sub>50</sub> aguda, que es la concentración de una sustancia en el aire que causa la muerte del 50% de la población de las ratas de prueba; se expresa en mg/m<sup>3</sup> o en partes por millón (ppm). La clasificación según estos criterios se presenta en la tabla II.

Categorías	DL <sub>50</sub> en mg/Kg								CL <sub>50</sub> por inhalación de vapor mg/L	
	Oral				Dérmica					
	Sólido		Líquido		Sólido		Líquido		Más de	Hasta
	Más de	Hasta	Más de	Hasta	Más de	Hasta	Más de	Hasta		
Extremadamente tóxicos	---	5.0	---	20.0	---	10.0	---	40.0	---	0.5
Altamente tóxicos	5.0	50.0	20.0	200.0	10.0	100.0	40.0	400.0	0.5	2.0
Moderadamente tóxicos	50.0	500.0	200.0	2000.0	100.0	1000.0	400.0	4000.0	2.0	10.0
Ligeramente tóxicos	500.0	--	2000.0	--	1000.0	---	4000	---	10.0	---

Tabla II.- Clasificación de los plaguicidas de acuerdo a su toxicidad aguda<sup>(6)</sup>

**I.2.8.- En función a la persistencia**

- Ligeramente persistentes: menos de cuatro semanas.
- Poco persistentes: de cuatro a veintiséis semanas.
- Moderadamente persistentes: de veintisiete a cincuenta y dos semanas.
- Altamente persistentes: más de un año y menos de veinte.
- Permanentes: más de veinte años.

### **I.2.9.- Clasificación desde el punto de vista químico**

Esta clasificación tiene mayores ventajas ya que permite agrupar a los plaguicidas con un criterio más uniforme y científico. De esta manera se puede agrupar en familias de grupos de compuestos que comparten estructuras y propiedades fisicoquímicas y toxicológicas similares. Las principales familias de plaguicidas son:

- |                      |                                      |
|----------------------|--------------------------------------|
| a) Organoclorados.   | f) Compuestos de amonio cuaternario. |
| b) Organofosforados. | g) Antrazinas.                       |
| c) Carbamatos.       | h) Bencimidazoles.                   |
| d) Fenilureas.       | i) Pirimidinas.                      |
| e) Fenoxiácidos      | j) Piretrinas.                       |

### **I.3.- PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS (OPC's por sus siglas en inglés)<sup>(4, 7, 8)</sup>**

Agrupar a un considerable número de compuestos sintéticos, cuya estructura química corresponde a los hidrocarburos clorados, la mayoría son empleados como insecticidas, presentan una elevada toxicidad, son elevadamente persistentes en el suelo, poseen una gran estabilidad y afinidad por los tejidos grasos y se bioacumulan a lo largo de la cadena trófica<sup>(8)</sup>.

Dentro del grupo de organoclorados puede distinguirse cinco subgrupos:

- ♦ Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos: DDT y compuestos análogos, tales como DDE, DDD, Diclofol, Metoxicloro y Ciclobencilato.
- ♦ Cicloalcanos clorados: Isómeros del Hexaclorociclohexano, dentro de los cuales el más conocido es el Lindano (isómero gama).
- ♦ Ciclodienos clorados: Aldrin, Dieldrin, Endrin, Endosulfan, Mirex, Clordano.
- ♦ Terpenos clorados: Confeclor o Toxafeno.
- ♦ Derivados decaclorociclodecanos: Clordene, Delorane, Levulinato.

#### **I.3.1.-Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos**

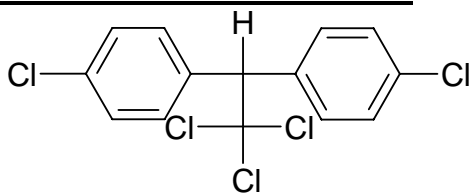


Figura 4.- Estructura del DDT

Dentro de estos derivados clorados, el Diclorodifeniltricloroetano o DDT por sus siglas es el que ocupa el lugar privilegiado y ostentó un sitio de primacía, con una gran producción mundial y a pesar de los ataques de que ha sido objeto, debe reconocerse su positiva contribución a la salud humana, en su lucha contra parásitos que atacan al hombre o los vectores de enfermedades tales como el paludismo. El DDT técnico empleados en las formulaciones no corresponde a un producto puro, sino que es una mezcla de isómeros entre los cuales el más abundante y efectivo es el p,p-DDT existiendo cantidades más o menos considerables del isómero o,p- DDT, o,o-DDT y de p,p-DDD, junto con p-Diclorobenceno y otras impurezas

derivadas de su síntesis. El producto más activo es el p,p-DDT, seguido del p,p-DDD y a mucho mayor distancia se encuentra el isómero o,p-DDT, como se muestra en la tabla III.

Productos en DDT técnico	Anopheles	Drosophila	Heliothrips
p,p-DDT	0.002	1.0	0.001
o,p- DDT	0.012	145.0	>0.1
p,p-DDD	0.0025	17.0	0.006

Tabla III.- Dosis letal de DDT para 50% de mortalidad (LC-50)<sup>(4)</sup>

El DDT es prácticamente insoluble en agua (sólo 0.0012 ppm) pero se disuelve en disolventes orgánicos, aceites y grasas con un coeficiente de reparto claramente favorable hacia el aceite y por ello cuando se ingiere, se acumula en los tejidos grasos, pudiendo pasar a la leche. Otra propiedad notable es su bajísima presión de vapor ( $1.5 \times 10^{-7}$  mm de Hg), poseyendo una volatilidad muy escasa, lo cual unido a su poca sensibilidad a la luz ultravioleta de los rayos solares; explica su notable resistencia. Su espectro de acción es muy amplio, lento y mejor a bajas temperatura que a las elevadas.

El abuso del DDT en aplicaciones repetidas provocó el desarrollo de resistencias en insectos sensibles al DDT, esta resistencia se atribuye a la presencia una enzima específica capaz de deshidroclorarlo y transformarlo en el derivado Etilénico o DDE, inocuo al organismo. Esta transformación tiene lugar de modo principal en el esqueleto clorofórmico del DDT (figura 5) que es el que sufre los mayores cambios.

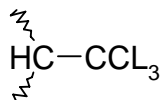


Figura 5.- Esqueleto clorofórmico del DDT

En los vertebrados es común la presencia en orina y heces del producto de oxidación que se forma a través de varias etapas (figura 6).

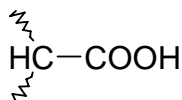


Figura 6.-Productos de oxidación del DDT

Pero esta transformación comprobada en rata y mono y otros vertebrados, no es la norma para el hombre, en el cual el DDT se almacena bajo la forma del derivado etilénico del DDT, o sea el DDE: completamente inactivo como insecticida.

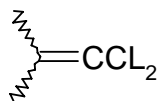


Figura 7.- Derivados etilénicos del DDT

### **Análogos del DDT**

El descubrimiento de las excelentes propiedades insecticidas del DDT, desarrolló la búsqueda de compuestos de constitución similar, varios de los cuales han llegado a comercializarse.

El Metoxiclor es, sin duda el más conocido y empleado de tales análogos, su espectro de acción es similar al del DDT, pero con una acción más suave y no se acumula en el tejido graso. El DDE o DDD (conocido también como Rothane) es uno de los metabolitos del DDT que se ha empleado como insecticida en algunos problemas como larvas de mosquitos. El Perthane o Etilan se ha usado contra psilas y otras plagas.

El Prolan y Bulan contienen grupos nitro en vez del grupo clorofórmico característico del DDT. No se emplean aislados, sino bajo la marca "Dilan" (25% Prolan y 75% Bulan). Por último y como análogos del DDT debiera considerarse aquí el Clorobenzilato, Dicolfol, Dimite, Tedion entre otros.

En cuanto a la acción tóxica del DDT los caminos que la conducen no son muy claros, solo recientemente se ha podido encontrar teorías sugerentes y coherentes. Actualmente va ganando la propuesta de que el DDT actúa por inhibición de la enzima ATP-asa que regula los iones de calcio de la membrana celular, impidiendo así el retorno de la membrana nerviosa a su estado de equilibrio.

### **I.3.2.-Derivados halogenados de cicloalcanos**

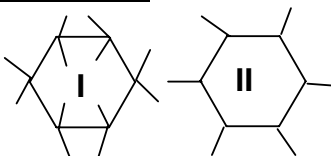


Figura 8.-Esteroisómeros del Hexaclorociclohexano

El principal representante de este grupo es el Hexaclorociclohexano, conocido abreviadamente como HCH, sigue en historia y popularidad al DDT. El HCH se obtiene por cloración del benceno por irradiación de luz ultravioleta, originándose una mezcla de ocho estereoisómeros de los cuales cinco se pueden encontrar en el producto crudo (70% como  $\alpha$ -HCH, 6%  $\beta$ -HCH, 13%  $\gamma$ -HCH, 6%  $\delta$ -HCH y  $\epsilon$ -HCH en trazas) además, contiene cantidades menores de subproducto como el Heptaclorociclohexano, y el Octaclorociclohexano. La actividad insecticida de tales isómeros es muy distinta y solamente el isómero  $\gamma$ -HCH presenta una acción relevante y acusada.

Con el uso de métodos físico-químicos se ha podido conducir la síntesis a productos más ricos en isómero gamma que el HCH normal y empleando disolventes selectivos se consigue separar dicho isómero en estado de gran pureza, recibiendo entonces el nombre de Lindano, con este término se designa el isómero  $\gamma$  del HCH, con un mínimo de riqueza; cualquier otro producto de riqueza inferior al 99% podrá ser considerado HCH enriquecido, pero no Lindano. El producto puro posee una presión de vapor de  $9 \times 10^{-6}$  mm de Hg a  $20^\circ\text{C}$ , lo cual le permite tener una acción fumigante en atmósfera seca, es estable al calor, es más soluble al agua (10 mg/L) que el DDT, soluble en acetona, benceno, cloroformo y etanol. Es estable a la acción de la luz solar, al oxígeno del aire, al calor y a los ácidos concentrados. Sin embargo, en medios alcalinos se descompone y libera con facilidad HCl.

El Lindano tiene aplicaciones más extensas que el HCH, pues no posee inconvenientes como proporcionar olor y sabor a las plantas tratadas, ni se acumulan en tejido graso, ni pasa a la leche, por lo que se usa en la ganadería, se ha encontrado que el Lindano aplicado al suelo sufre deshidrocloración transformándose en  $\gamma$ -pentaclorociclohexano, de acción insecticida unas mil veces inferior a la del Lindano, con la adición de oxígeno y deshidrocloración puede formar 2,4,5-Triclorofenol y 2,3,4,6-Tetraclorofenol.

### I.3.3.-Derivados ciclodiénicos

Bajo esta denominación englobamos aquí tres grupos de insecticidas que se caracterizan por una estructura química similar, que consiste fundamentalmente en un anillo cíclico con doble enlace y puente metilénico, el cual puede estar unido o no a otro anillo, u otros grupos.

Atendiendo a su constitución química podemos formar tres series:

- Derivados de dimetanaftaleno: Aldrin, Dieldrin, Isodrin y Endrin.
- Derivados de indano: Clordano y Heptacloro.
- Derivados de bicicloheptano: Telodrin, Endosulfan, Ciclodan, Bromodan.

Los insecticidas del primer grupo son muy homogéneos entre si y podemos dividirlos en dos categorías distintas: una formada por los predecesores y otra por sus epóxidos, como sigue:

<b>Predecesores</b>	<b>Epóxidos</b>
Aldrín	Dieldrín
Isodrín	Endrín

Tabla IV.- Derivados del Dimetanaftaleno

Todos ellos gozan de actividad insecticida y los predecesores son isómeros entre sí, distinguiéndose solamente por las posiciones respectivas de dobles enlaces que pueden ser endo-endo (del mismo lado) o endo-exo (uno a cada lado) como expresan las fórmulas esquemáticas a continuación:

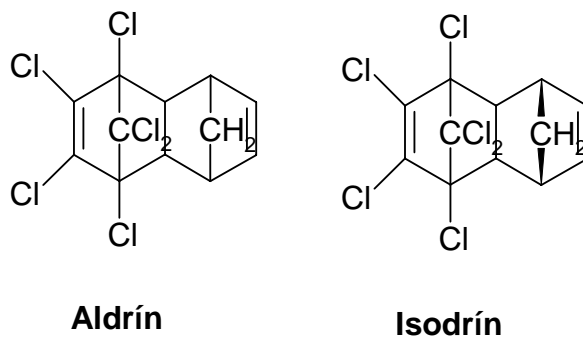


Figura 9.- Isómeros de Aldrín

En las fórmulas expresadas en la figura 9 puede abrirse un doble enlace y captar un átomo de oxígeno, formándose el epóxido que caracteriza a los insecticidas Dieldrín y Endrín.

El Clordano y Heptacloro son mezclas de isómeros y compuestos relacionados. En la síntesis del Clordano inicialmente contenía 70% de los isómeros alfa (endo-cis) y beta (endo-trans), el otro porcentaje lo constituían productos relacionados como Heptacloro, Eneacloro, Decacloro y análogos al compuesto principal. El perfeccionamiento de los métodos de síntesis y purificación han permitido obtener hasta un 95% de los isómeros cis, trans (70% cis y 25% de trans) y el 5% o menos de productos relacionados. El Heptacloro técnico consta de un 72% o más de Heptacloro y el resto son compuestos afines. El Clordano y el Heptacloro al igual que el Aldrín se pueden transformar en sus epóxidos tanto en el suelo, como en animales o en sistemas biológicos. Estos epóxidos son bastantes estables, especialmente en insectos y su metabolismo es lento produciéndose una variedad de compuestos. El Dieldrín y análogos producen trans-diol y

también con frecuencia, Pentacloroacetano. En el caso de los derivados del Indano se originan productos más insaturados, como el Clordene, de metabolización lenta y difícil.

A excepción del Endrín, el principal empleo de estos productos ha sido en el tratamiento de suelos, debido a sus presiones de vapor, como se ve en la tabla V.

Aldrín	$20 \times 10^{-6}$ mm de Hg	20°C
Clordano	$10 \times 10^{-6}$ mm de Hg	25°C
Dieldrín	$0.18 \times 10^{-6}$ mm de Hg	25°C
Endrín	$0.20 \times 10^{-6}$ mm de Hg	25°C

Tabla V.- Presión de vapor de derivados de Ciclodiénicos

Los insecticidas incluidos en la tercera serie de este grupo son: Clorbiciclen, Bromociclen, Endosulfan e Isobenzan (Telodrin). El Endosulfan es el único que ha alcanzado un extenso uso agrícola, consta de dos isómeros denominados alfa y beta que se encuentran en cuantías del 70% y 30% respectivamente en el producto técnico.

En su metabolismo, el Endosulfan se oxida y proporciona el Endosulfan-diol, la lactona, el Endosulfato y otros productos, cuya preponderancia varía según el organismo metabolizante.

#### **I.3.4.-Terpenos clorados**

El único insecticida de este grupo es el Camfeclor, conocido como Toxafeno, el cual es una mezcla muy compleja cuya constitución no está del todo dilucidada. El producto principal de la mezcla corresponde a una composición expresada por la fórmula empírica  $C_{10}H_{10}Cl_8$ . Los compuestos separados que forman a la mezcla (aunque no completamente puros), pueden ostentar desde ninguno hasta once átomos de cloro, incluso cada uno de ellos puede presentar varias isomerías, aunque sólo el 56% del total de la mezcla está formada por los compuestos con 7 y 8 átomos de cloro. La falta de precisión en su constitución ha hecho que organismos internacionales como la FAO y la OMS sean reacios a conceder tolerancia a estos productos y han restringido su uso.

#### **I.3.4.-Derivados decaclorociclododecanos**

Estos derivados ocupan una posición singular dentro de los insecticidas clorados, más por sus aspectos técnico científicos y quimiobiológicos, que por su amplitud de aplicaciones, sujetos a graves reparos. Estos insecticidas se derivan de una estructura en forma de “caja” como sigue:

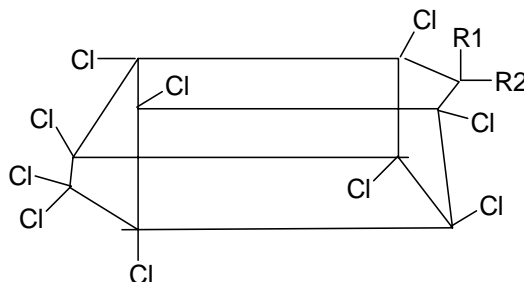


Figura 10.- Estructura base para los derivados Decaclorociclododecano

En esta “caja” todos los átomos de carbono están unidos a átomos de cloro, menos los señalados con los enlaces libres  $R_1$  y  $R_2$ . Son los sustituyentes en estos radicales lo que diferencia a los tres insecticidas pertenecientes a este grupo:

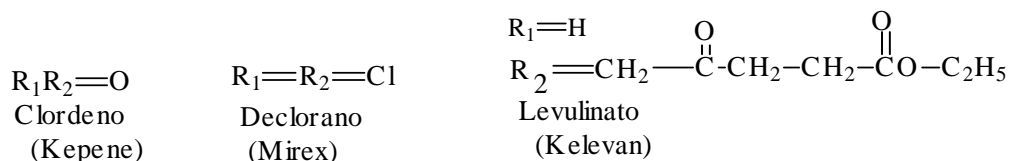


Figura 11.- Sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$  del Pentaclorociclododecano

El Clordeno y el Declorano presentan características comunes, como su alto grado de cloración, dificultad de metabolizarse o eliminarse, riesgo de carcinogenia en ratas y ratones, por lo que están limitados a unos cuantos usos. En cambio el Kelevan, por la presencia del grupo  $R_2$  (ácido Levunílico), hace menos difícil su metabolismo y su empleo es más extenso<sup>(4)</sup>.

Los OPC's han sido los plaguicidas más criticados por los grupos ecologistas desde que en 1962 una publicación de la bióloga Marina Rachel Carson's<sup>(9)</sup> causó sospechas en su uso y se encontró que tienen grandes efectos negativos en el medio ambiente debido a sus características de "persistencia" y que además son "acumulativos", así como por la asociación con enfermedades como el cáncer y mutagénesis entre otras. Pero otro lado que no debe echarse al olvido el gran beneficio que para la salud humana ha significado el advenimiento del DDT y otros OPC's, en su lucha contra parásitos o vectores de enfermedades que atacan al hombre, a los mayores rendimientos y calidad en las cosechas al luchar contra una amplia gama de plagas agrícolas. Y debe decirse que cada derivado posee sus características propias de modo tal que los inconvenientes consecuentes al uso de algunos de ellos no deben ser extrapolados a los demás.

#### I.4.- NORMATIVIDAD DE LOS LÍMITES PERMITIDOS DE PLAGUICIDAS EN AGUA<sup>(6,10)</sup>

Hoy en día la agricultura es más intensa en el mundo, y parece inevitable el uso de químicos para el control de plagas, por lo que se han de incrementar las leyes y regulaciones en el uso de plaguicidas en los diferentes países, basadas no sólo en su empleo, sino también en la protección a los usuarios, a los consumidores de productos tratados, en la prevención de contaminación y salvaguarda del medio ambiente.

En el mundo la normatividad sobre el uso de la variedad de plaguicidas es diferente debido a las condiciones sociales, económicas, ambientales y las diversas necesidades para combatir a las plagas. Pero sin duda, es necesaria la regulación del uso de plaguicidas, ya que éstos pueden ser transportados por una ruta importante como lo son las precipitaciones atmosféricas, dando como resultado la contaminación de los reservorios de aguas alejadas del lugar donde se aplicó el plaguicida, por ejemplo los lagos de las montañas o hasta las regiones polares.

Por eso, no es de sorprenderse que desde 1970, cuando se detectó por primera vez la presencia de plaguicidas en el agua del río Rin, en Europa, se desarrollaron varios programas de control monitorio, con el propósito de comprobar la calidad del agua. El programa empezó a trabajar en 1977 y los participantes de este proyecto fueron Alemania, Francia, Luxemburgo, Suiza y los Países Bajos. Desde entonces los plaguicidas han sido evaluados en aguas superficiales y subterráneas en el mundo<sup>(3)</sup>.

En Europa, la presencia de plaguicidas en el agua para consumo humano está regulada por la Directiva Europea 98/83/EC que establece la concentración máxima de cada plaguicida a  $0.1 \mu\text{gL}^{-1}$  y para plaguicidas totales de  $0.5 \mu\text{gL}^{-1}$ . También ha establecido concentraciones máximas

individuales de  $0.03 \mu\text{gL}^{-1}$  para plaguicidas como Aldrín, su epóxido Dieldrín, Heptacloro y el epóxido de Heptacloro<sup>(11)</sup>.

Por otro lado en Estados Unidos de Norteamérica, en 1970 se creó la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (USEPA por sus sigla en inglés) la cual es la responsable de la regulación de los plaguicidas, de las investigaciones relacionadas con ellos, del marco de tolerancia y el programa de monitoreo. La oficina del agua de la USEPA estableció regulaciones para el agua potable más acordes con los límites admisibles para la salud, ya que los diferentes plaguicidas no presentan similitud en sus toxicidades. Así por ejemplo se tiene un nivel límite de  $10 \mu\text{gL}^{-1}$  para Aldicarb y  $200 \mu\text{gL}^{-1}$  para Oxamilo<sup>(12)</sup>. Por esta razón los límites de detección y cuantificación de la mayoría de los métodos de análisis de vestigios de plaguicidas en agua se encuentran en las partes por billón y en las partes por trillón<sup>(3)</sup>.

México, por su parte ha creado la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICLOPLAFEST), la cual publicó en los años de 1991 y 1998 el Catálogo Oficial de Plaguicidas, que contienen los productos registrados, sus usos autorizados, sus características principales, así como las indicaciones para uso e información sobre los riesgos que los mismos implican y sobre el tratamiento en caso de intoxicaciones.

En este catálogo se encuentra una lista de plaguicidas prohibidos en México, para su importación, fabricación, formulación, comercialización y uso.

Acetato o propionato de Fenilo	Endrín	Mirex
Ácido 2,4,5-T	EPN	Monuron
Aldrín	Erbón	Nitrofen
Cianofos	Fluoroacetato de sodio	Paratión Etilico
Cloranil	Formación	Scradan
DBCP	Fumisel	Sulfato de Talio
Dialofor	HCH	Toxafeno
Dieldrín	Kepono/clordecone	Triamifos
Dinoseb	Mercurio	

Tabla VI.- Lista de plaguicidas prohibidos en México<sup>(6)</sup>

También se puede encontrar una lista de plaguicidas restringidos como el DDT, que por su alto riesgo para la salud humana, su elevada persistencia y sus propiedades de bioacumulación solo es utilizado por las dependencias gubernamentales en campañas sanitarias.

Aldicarb	Mevinfos
Dicofol	Paraquat
Forato	Pantaclorofenol
Lindano	Quintozeno
Metoxicloro	DDT

Tabla VII.- Lista de plaguicidas restringidos en México<sup>(6)</sup>

En la Ley Federal de Derechos, disposiciones aplicables en materia de Aguas Nacionales, se encuentran los parámetros que se deben de cumplir para los lineamientos de calidad del agua, de acuerdo con el grado admisible correspondiente al destino inmediato posterior. Para que no se



pagué el derecho sobre el agua que regrese a su fuente original o que sea vertida en cualquier otro sitio previamente autorizado por la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA por sus siglas)<sup>(10)</sup>.

Usos	1	2	3	4
Parámetros (en mg/L)				
Aldrin	0.001	0.02	0.0003	0.0074
BHC	0.0005	---	0.0005	0.0005
BHC (Lindano)	---	---	0.001	0.000004
DDD	0.001	---	0.00001	0.00001
DDE	--	0.04	0.01	0.0001
DDT	0.001	---	0.001	0.0001
Dieldrin	0.001	0.02	0.002	0.0009
Endosulfan ( $\alpha$ y $\beta$ )	0.07	---	0.0002	0.00003
Endrín	0.0005	---	0.00002	0.00004
Paratión	0.0001	---	0.0001	0.0001

Uso 1.- Fuente de abastecimiento para uso público y urbano.

Uso 2.- Riego agrícola

Uso 3.- Protección a la vida acuática: agua dulce incluyendo humedales.

Uso 4.- Protección a la vida acuática: agua costeras y estuarios.

Tabla VIII.- Lineamientos de calidad para el agua residual autorizado por CONAGUA<sup>(10)</sup>

La norma oficial México NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano –límites permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para su potabilización" establece la cantidad de: Aldrín y Dieldrín (separados o combinados) de  $0.03 \mu\text{gL}^{-1}$ , Clordano (total de isómeros)  $0.30 \mu\text{gL}^{-1}$ , DDT (total de isómeros)  $1.00 \mu\text{gL}^{-1}$ ,  $\gamma$ -HCH (lindano)  $2.00 \mu\text{gL}^{-1}$ , Hexaclorobenceno  $0.01 \mu\text{gL}^{-1}$ , Heptacloro y epóxido de Heptacloro  $0.03 \mu\text{gL}^{-1}$  y Metoxicloro  $20.00 \mu\text{gL}^{-1}$ .

La creciente preocupación acerca de la calidad y seguridad del medio ambiente hizo que organizaciones como la Unión Europea, la Agencia para la Protección de Ambiente de los Estados Unidos de Norteamérica (USEPA, por sus siglas en inglés) y otras organizaciones afiliadas, cada una por su parte compilaran una lista de los contaminantes prioritarios y establecieran reglas y regulaciones para su control. Como consecuencia ha habido un incremento rápido en la demanda de métodos para la determinación de una amplia variedad de contaminantes en diversas matrices. Una matriz de vital importancia es el agua, por lo que muchos laboratorios se han enfocado en el análisis de aguas, fluviales, potables, subterráneas, pluviales, residuales, marítimas, etc. Dentro de los contaminantes que aquejan al agua se encuentran los plaguicidas organoclorados, algunos de ellos están incluidos en la lista de los 132 contaminantes prioritarios aceptada desde 1982 por la comunidad Europea que coincide con la USEPA sin embargo, la USEPA especifica métodos analíticos para su determinación<sup>(12, 13)</sup>.

## TEMA II

### METODOLOGÍA DE ANÁLISIS

Al estudiar y trabajar con la información encontrada en la revisión bibliográfica para este trabajo, se encontró que las metodologías coinciden en las siguientes etapas para la determinación de los plaguicidas organoclorados en agua.

- I. **IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.**
- II. **ELECCIÓN DEL MÉTODO A UTILIZAR.**
- III. **MUESTREO.**
- IV. **PREPARACIÓN O TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.**
- V. **PROCEDIMIENTO ANALÍTICO.**
- VI. **TÉCNICA DE DETERMINACIÓN.**
- VII. **EVALUACIÓN DE RESULTADOS E INFORME.**

Los puntos IV, V y VI se encuentran subrayados debido a que a pesar de que se separan estas etapas para un mejor entendimiento éstas se encuentran relacionadas entre sí para tomar la decisión de condiciones en que se trabaja en c/u de ellas.

Por lo anterior en este capítulo se explicará y desarrollará el trabajo revisando cada etapa y así describir la información encontrada y desglosarla de una forma lógica y ordenada como se llevaría a cabo al aplicar una metodología de análisis.

#### I.- IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En esta etapa los métodos indican qué problema pueden resolver, qué tipo de muestra se va analizar, qué información se busca, si es un análisis cualitativo o cuantitativo y la instrumentación requerida. Por lo que desde el título de la metodología se puede observar que ya se tiene un área restringida de trabajo y de alguna forma se puede inferir el grado de exactitud y precisión que se puede esperar de los resultados.

Ejemplificando, en este trabajo la identificación del problema analítico es el análisis de plaguicidas organoclorados en agua utilizando para la determinación de éstos la técnica de Cromatografía de Gases. Por ejemplo métodos que cumplen esta identificación del problema son los métodos USEPA 508<sup>(14)</sup> y 525<sup>(15)</sup> pero cambia si es para aguas de manantiales o residuales, por lo tanto se puede afinar lo más posible la identificación del problema analítico.

Es de importancia indicar que los valores estadísticos que se dan en los métodos, pueden ser esperados al seguir dicho método siempre y cuando que se aplique la metodología de manera completa (sin cambios) para resolver el problema analítico identificado, en el caso de que se varíe algo del método establecido se tendrá que demostrar si ese cambio modifica o no los parámetros de calidad planteados para el método original.

#### II.- ELECCIÓN DEL MÉTODO A UTILIZAR

En esta etapa lo que se busca es definir de manera completa el método que se aplicará para resolver el problema, es decir ya se tomaron en cuenta todas las variantes que deseo resolver con mi método; como la matriz a trabajar, tipo de muestreo, el sistema o técnicas analíticas a

aplicar para resolver el problema, valores estadísticos esperables (como límites de detección, etc.), y el aseguramiento de la calidad de los datos, etc.

Ejemplificando con el punto anterior de los 2 métodos mencionados se elige sólo uno de ellos.

Los métodos deben de ser consistentes con el nivel de concentración del analito que se pretende determinar y con el tipo de matriz en que se encuentran éstos; es importante que el método cuente con adecuada precisión y exactitud para que los resultados buscados se puedan lograr de forma eficiente y veraz. También se deben considerar las limitaciones que pueden surgir por la falta de disponibilidad del equipo, de la cantidad de muestra disponible, del personal, de tiempos y recursos. Hay otros factores a tomar en cuenta al elegir el método que afectan el costo y la calidad de los resultados, éstos se resumen en los siguientes:

- ❖ El nivel de confianza requerido en lo relativo a la identificación de los analitos.
- ❖ El nivel de concentración de los analitos que se van determinar.
- ❖ El grado de confianza que se necesita obtener en el resultado.
- ❖ El grado necesario de validación del método que se va a emplear.
- ❖ El grado de aseguramiento de la calidad de los resultados.

Existen varios métodos cuya clasificación depende de diversos criterios pero todas estas categorías se reducen a cuatro cuando se hace referencia a la fuente que proporciona el método en cuestión<sup>(16)</sup>.

### **II.1.- Métodos estándar**

Están desarrolladas por organizaciones de prestigio como la ASTM o la Asociación Oficial de Química Analítica (Association of Official Analytical Chemistry, AOAC por sus siglas en inglés). Estas organizaciones diseñan y ofrecen métodos de probada exactitud y precisión, que han sido sometidos a intensas investigaciones antes de adquirir el calificativo de estándar, su validación se hace necesaria cuando se haya efectuado alguna modificación o se apliquen a matrices diferentes a las indicadas por ellos.

### **II.2.- Métodos oficiales**

Son aquellos métodos cuyo uso puede ser exigido por organismos gubernamentales tales como la USEPA o el Instituto Nacional de Salud y Seguridad Laboral (National Institute of Occupational Safety and Health, NIOSH por sus siglas en inglés) para satisfacer regulaciones federales y/o estatales. En estos métodos la exactitud y precisión también está comprobada.

En México estas son las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) y las Normas Mexicanas (NMX).

### **II.3.- Métodos recogidos en revistas analíticas**

Existe una amplia variedad de revistas prestigiadas, generales y específicas donde aparecen infinidad de métodos analíticos que deben usarse con suma precaución y ser sometidos a un estudio previo de validación. La serie del Chemical Abstracts, la del Analytical Chemistry son un buen sitio para comenzar una búsqueda de literatura.

### **II.4.- Métodos desarrollados por algún laboratorio**

Existen laboratorios que diseñan sus propios métodos para el análisis de algunos compuestos, debido a que un procedimiento estándar para la determinación de un analito en una

matriz no es aplicable para todo tipo de muestra. Por lo que se basan en la información de la literatura sobre dicho analito y los adoptan de acuerdo a sus necesidades.

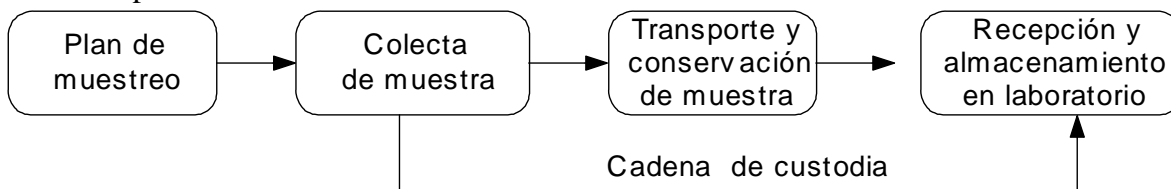
Por otro lado en esta etapa se encontró que existen métodos compuestos por algunos de los antes clasificados para al final hacer una metodología mucho más completa. Por ejemplo el método 8081<sup>(17)</sup> de la USEPA, -“Determinación de Plaguicidas Organoclorados por Cromatografía en Matrices Líquidas o Sólidas”-, durante su desarrollo requiere de otros métodos de preparación de analítica más cortos como el 3540<sup>(18)</sup> (Extracción por la Técnica Soxhlet), 3520<sup>(19)</sup> (Extracción Líquido-Líquido) y para procedimiento de limpieza del extracto están: el 3610<sup>(20)</sup> (Limpieza con Alúmina), 3620<sup>(21)</sup> (Limpieza con Florosil), 3630<sup>(22)</sup> (Limpieza con Sílica Gel), 3660<sup>(23)</sup> (Eliminación de Azufre).

### III.- MUESTREO<sup>(16, 24, 25, 26, 27)</sup>

Por mucho tiempo los analistas dieron poca importancia a la recolección de muestras o muestreo, pero en las pasadas décadas se han dado cuenta que es el paso más importante en un análisis químico, ya que si ésta no es tomada de forma apropiada, no tiene ningún sentido químico, ni económico el realizar los análisis planteados. Se debe asegurar que la recolección de muestras sea representativa de la población a estudiar y del lugar donde se muestrea, por ende se deben tener controles de calidad estrictos para la toma, y de esta forma se evita la detección de falsos positivos.

En general, el método de muestreo depende de la información que se pretenda obtener y del lugar donde se encuentre la muestra. Para un tipo de matriz como el agua el método de muestreo varía dependiendo de si es agua de un río, agua subterránea, pluvial, residual, potable, de una presa, etc.

Las operaciones más relevantes consideradas en el muestreo son:



La toma de muestras ambientales para su análisis es una cuestión muy compleja cuyo grado de variación es tan grande, como numerosas las sustancias y lugares en los que se lleva a cabo. Las operaciones de toma de muestra ambiental no sólo implican obtener una fracción representativa del lugar a analizar, sino que la misma debe ser manipulada de forma que no haya pérdida de información, por lo que resulta necesario llevar un control de calidad del proceso de muestreo.

Los objetivos para llevar un control del muestreo son:

- ❖ Dar cuenta detallada de las razones en la que se basan las decisiones acerca de la elección del número de puntos, su localización, el momento y periodicidad del muestreo.
- ❖ Asegurar la integridad de las muestras, o de los analitos durante el proceso de muestreo y transporte.
- ❖ Garantizar la existencia de una documentación completa de todos los pasos llevados a cabo, quién los realizó y las circunstancias en que se llevaron a cabo, esto es conocido como cadena de custodia.

Lo anterior permite comprobar el cumplimiento de los protocolos establecidos, las posibles desviaciones y la justificación de las mismas. Por lo que se está sujeto al plan de control de calidad: la colecta de muestra, su transporte, el factor humano y la documentación (cadena de custodia).

Durante la revisión bibliográfica se observó que en general en los métodos analíticos mencionados en la sección II no hacen referencia profunda a algunas operaciones del muestreo. Un ejemplo son los métodos USEPA y ASTM que no especifican en sus métodos analíticos la forma de realizar el muestreo, debido a que esto lo presentan en otros documentos separados a estos métodos analíticos además de que indican que para el desarrollo de sus métodos se requiere de personal calificado y con experiencia, por lo que se intuye que deben tener conocimiento sobre el muestreo. Ya que el muestreo es un punto crítico en cualquier análisis químico, se decidió hablar de forma general de las consideraciones que se deben tomar en cuenta en cada una de sus operaciones.

### **III.1.- Plan de muestreo**

El plan de muestreo obliga a pensar más detalladamente sobre todos los pasos a seguir durante la toma de muestra, si el plan es claro se evitan errores de interpretación, da garantía de que el proceso se ha realizado siguiendo el protocolo deseado y ayuda a asegurar la calidad de los resultados. La selección de una estrategia de muestreo apropiada tiene considerables efectos en la información, por ejemplo para plaguicidas usados en siembras de temporal es muy importante determinar la frecuencia conveniente del muestreo, ya que una mala planeación de esto puede resultar en grandes desviaciones en la evaluación de la concentración promedio anual del plaguicida.

Los requisitos básicos a considerar en un plan de muestreo son:

- a. Información sobre la muestra: origen, determinación del lugar, periodo de toma, composición, considerar si el volumen permanece constante con el tiempo y el lugar, si la matriz está constituida de una o más fases en cuyo caso es necesario definir si el analito debe determinarse en una de ellas o en el total, de acuerdo con el protocolo establecido.
- b. Tipo de recipientes a ser utilizados para realizar el muestreo en el sitio y su etiquetado así como las condiciones de almacenamiento durante su traslado.
- c. Consideraciones especiales como: registrar parámetros determinados *in situ* según el protocolo (temperatura, pH, conductividad, etc.), así como otros datos auxiliares que pueden ayudar para el proceso de análisis e interpretación de resultados.
- d. El tipo de instrumentación a ser usado durante el muestreo en caso de requerirse, incluyendo su mantenimiento y calibración.
- e. Definir el tipo de muestra que se quiere obtener, por lo que puede ser: muestra representativa (de composición y propiedades similares al conjunto de muestra), muestra selectiva (obtenida de una zona determinada), muestra protocolo o sistemática (obtenida según un procedimiento establecido), muestra aleatoria (obtenida al azar de un conjunto de muestras), muestra compuesta (formada por dos o más incrementos, su composición es considerada como promedio y elimina la necesidad de analizar un número elevado de muestras).
- f. Tipo de muestreo: muestreo intuitivo (basado en la experiencia del muestreador), muestreo estadístico (implica el análisis de un gran número de muestras obtenidas siguiendo un modelo determinado), muestreo por protocolo (viene de un plan específico y suele señalar el tamaño, frecuencia, periodo y lugar de muestreo).
- g. Ropa y equipo de seguridad para el personal que realizará el muestreo.

- h. Esquemas sobre seguridad y precauciones a tomar durante el muestreo por parte de las personas que realizarán éste.

### **III.2.- Colección de la muestra**

Para la recolección de la muestra los aspectos generales más relevantes a controlar son los siguientes:

- ❖ Actividades previas al campo, como la comprobación y calibración de equipos de toma de muestra, limpieza y embalaje de los envases, etc.
- ❖ Tipo de muestra de acuerdo con el protocolo.
- ❖ Metodología de muestreo; las técnicas y el equipo de toma de muestra deben ajustarse, tanto a los objetivos del muestreo, como a las características de la muestra.
- ❖ Análisis realizados en el campo; registrar parámetros determinados *in situ* según el protocolo.
- ❖ En el caso de analitos sensibles serán preservados de acuerdo a su protocolo de conservación.
- ❖ Debe comprobarse que todos los materiales utilizados en la toma de muestra no producirán interferencias en el análisis de la misma. Para ello es preciso emplear blancos de campo, los cuales sirven para evaluar la contaminación accidental de la muestra durante el proceso de obtención; para ello una vez que se tomó la muestra y lavó el dispositivo de toma según el protocolo establecido, este se limpia nuevamente con agua bidestilada (o disolvente), la cual se recoge en un recipiente, se almacena y somete a los protocolos de conservación y transporte para su posterior análisis.
- ❖ La información mínima sobre las muestras a registrar en el campo es:

- Código de identificación de la muestra.
- Proyecto en el que se enmarca la muestra.
- Identificación del punto de muestreo.
- Localización del punto de toma de muestra.
- Fecha y hora de la toma de muestra.
- Condiciones meteorológicas.
- Parámetros de toma de muestra (profundidad, dimensiones,...).
- Referencia del instrumento y método empleado.
- Descripción de la muestra.
- Nombre del personal que ha participado en la operación.
- Enumeración de incidentes producidos durante la toma de muestra.
- Cualquier tipo de información relacionada con el procedimiento de toma de la misma.

Al realizarse la revisión sobre las formas de muestreo para plaguicidas en agua se encontró que existen principalmente dos tipos, el muestreo aleatorio y el muestreo compuesto. En el primero la muestra aleatoria se toma en un lugar y tiempo seleccionado al azar, su uso es apropiada cuando se desea caracterizar la calidad del agua en un tiempo y lugar particular, dar información acerca de la concentración máxima y mínima, para analizar parámetros que pueden estar sujetos a cambios<sup>(25)</sup>.

Una muestra compuesta se obtiene de la mezcla de varias muestras de igual peso y/o volumen, obtenidas de forma separada, en intervalos de tiempos regulares y que se almacenan en el mismo contenedor. Su composición es considerada como promedio y elimina la necesidad de

analizar un elevado número de muestras. En sitios que tienen flujos continuos en lugar de la colección de una muestra compuesta, se puede obtener la muestra con el volumen requerido en un sólo paso.

En la tabla IX se presenta algunas formas de coleccionar una muestra de agua dependiendo del lugar donde se encuentre.

LUGAR	FORMA
Agua de un río.	Si el flujo es homogéneo la muestra se toma de forma vertical en el centro del flujo. Si el flujo es no homogéneo se muestrea de forma transversal (centro, derecha, izquierda), verificando la homogeneidad. La profundidad mínima es de 0.3-1.0 m.
Agua de una presa.	La muestra se toma de forma vertical. A una profundidad de 0.3-1.0 m.
Agua subterránea.	La muestra se obtiene al succionar flujo del agua del pozo por medio de un sistema de bombeo por un periodo determinado.

Tabla IX.- Ejemplo de algunas tomas de muestra dependiendo del lugar en donde se realiza el muestreo<sup>(25)</sup>

En cuanto a los materiales, equipos y aparatos que se utilizan para la colección de las muestras, el método D3370 de la ASTM<sup>(28)</sup> recomienda el uso de algunos aparatos para la colecta de muestras en conductos cerrados, por ejemplo: condensadores, desgasificadores, frascos contenedores, reguladores de presión, filtros de muestra, medidores de flujo o caudal entre otros.

### **III.3.- Transporte de la muestra y conservación**

El lapso de tiempo debido al traslado de la muestra hasta el laboratorio exige, en numerosas ocasiones, que se garantice la conservación de la muestra mediante el establecimiento de un ambiente adecuado. Durante la conservación se debe procurar al mínimo los riesgos de alteración que se pudieran generar antes del análisis, bien sea por adsorción de gases, por oxidación al contacto con la atmósfera, fotodegradación, cambios de pH, entre otros. Para evaluar el impacto que puede tener el transporte y manipulación en campo de los envases es preciso emplear blancos de transporte, los cuales consiste en llenar un recipiente con agua bidestilada en el laboratorio, una vez en el campo se abre el recipiente el mismo espacio de tiempo al necesario para realizar la toma de la muestra y al terminar ésta se vuelve a cerrar el envase del blanco, después se somete a los protocolos de transporte para su posterior análisis.

La forma de conservar la muestra durante el transporte y el almacenaje posterior en el laboratorio depende del tipo de muestra que se va a analizar. Para el análisis de plaguicidas organoclorados en agua los métodos estandarizados como los de la USEPA (508<sup>(14)</sup> y 625<sup>(29)</sup>) recomiendan para prevenir la pérdida de los analitos de interés, evitar factores como:

1.- Pérdida por evaporación: en general los plaguicidas organoclorados poseen baja volatilidad, pero de cualquier forma se almacenan a 4°C y se minimiza la fase gaseosa del contenedor.

2.- Pérdida por transferencia del analito a las paredes del contenedor: los contenedores de plástico adsorben en su superficie polimérica a los plaguicidas hidrofóbicos dentro de las primeras 24 hrs, por lo que es recomendable el uso de contenedores de vidrio.

3.- Pérdida por hidrólisis: algunos plaguicidas se pueden hidrolizar cuando el pH alcanza valores críticos para ellos, por lo que algunas veces es necesario el uso de buffers, para el caso de plaguicidas ácidos es necesario acidular las muestras.

4.- Pérdida por fotodegradación: para prevenir la fotólisis del analito las muestras se mantienen en lugares oscuros o en contenedores ámbar.

5.- Pérdida por biodegradación: la presencia de organismos en el agua puede causar biodegradación del analito por lo que se agrega  $HgCl_2$  para inhibir la actividad biológica.

6.- Pérdida por tiempo de almacenaje: estudio realizados por la USEPA sugieren que el tiempo de almacenaje sea máximo de 7-14 días.

En la tabla X se muestra una lista con las formas de conservación de muestras de agua para analizar plaguicidas organoclorados por métodos de la USEPA.

MÉTODO	TIPO DE MUESTRA	MODO DE CONSERVACIÓN
USEPA 525 <sup>(15)</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Agua potable.</li> <li>● Agua de manantial.</li> </ul>	Si la muestra se toma de la llave, primero dejar que fluya el agua hasta que su temperatura se estabilice (1 a 2 min), una vez que se toma la muestra eliminar el cloro residual agregando 50 mg/L de $Na_2S_2O_3$ (sólido o en disolución), para retardar la degradación microbológica disminuir el pH < 2 con HCl 6 N (es importante seguir este orden), conservar a 4°C, alejada de la luz. El tiempo de conservación de la muestra es de 14 días, excepto el heptacloro, el cual si se desea analizar debe ser dentro de los primeros 7 días.
USEPA 508 <sup>(14)</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Agua potable.</li> <li>● Aguas para tomar</li> </ul>	
USEPA 505 <sup>(30)</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Agua para tomar.</li> </ul>	Una vez que se toma la muestra eliminar el cloro residual agregando 30 mg de $Na_2S_2O_3$ por 40 ml de muestra, conservar a 4°C, alejada de la luz. El tiempo de conservación es de 14 días, excepto el heptacloro, el cual si se desea analizar debe ser dentro de los primeros 7 días.

Tabla X.- Modos de conservación de muestras de agua para la determinación de plaguicidas organoclorados

Otra alternativa para el transporte y conservación de las muestras es la adsorción del analito sobre una superficie sólida, la cual entre las ventajas que ofrece está la disminución del peso de la muestra, el incremento en la estabilidad del analito, aparte de que disminuye la pérdida del analito debido a los factores antes mencionados. Por ejemplo, una muestra de agua



subterránea al proceder de un ambiente anaerobio y pasar a uno aerobio puede iniciar la oxidación, fotodegradación o biodegradación que puede continuar incluso durante su transporte.

En la revisión bibliográfica realizada por Igor Liska<sup>(25)</sup> hace referencia a algunas fases sólidas como la resina microreticular XAD-2, la sílica C<sub>18</sub> y el grafito de carbono para evitar la degradación biológica de algunos plaguicidas, permitiendo su conservación por un periodo casi de 100 días, debido a que los poros de la sílica y de la resina tienen un tamaño menor a una bacteria. También hace mención de la aplicación de sólidos usados en la extracción en fase sólida para la conservación de la muestra las cuales mantienen al analito por periodos más largos como 7 semanas.

#### **III.4.- Recepción y almacenamiento en el laboratorio**

En el laboratorio se debe garantizar la continuidad de la conservación de la muestra durante su almacenamiento, así como la existencia de una documentación completa de todos los pasos llevados a cabo en la recolección de la muestra (transferencia de la custodia) y de cómo se recibió ésta en el laboratorio. Además, debe existir una etiqueta o documento asociado a las muestras que contenga la siguiente información:

- Código de identificación de la muestra.
- Proyecto en el que se enmarca la muestra.
- Identificación del punto de muestreo.
- Fecha y hora de la toma de muestra.
- Fecha y hora de recepción en el laboratorio.
- Número de muestras.
- Instrucciones de manipulación de los recipientes.
- Indicaciones para la conservación.
- Registro del personal a carga de las muestras.
- Información relacionado con el proceso de transporte.

#### **III.5.- Cadena de custodia**

Esta se define como el procedimiento y la documentación resultante que demuestra la existencia de un control ininterrumpido de la muestra, desde su toma hasta su entrega final en el laboratorio. De esta forma se verifica, no sólo el origen de la muestra, sino también que no ha sido alterada o manipulada durante el proceso de obtención y transporte. La cadena de custodia de la muestra asegura la integridad y continuidad de la misma, de forma que los responsables de ella se encuentran identificados de forma inequívoca en todo momento y la muestra se mantiene bajo vigilancia o en un lugar controlado hasta su entrega al siguiente eslabón de la cadena. De otra forma los datos proporcionados por la muestra pueden carecer de validez legal.

La cadena de custodia se inicia en el campo con el responsable del equipo de muestreo, cuando se transfiere la custodia de la muestra el responsable precedente y el nuevo firmarán los registros necesarios con fecha y hora, al tiempo que comprueban la continuidad de la cadena. Cualquier posible irregularidad debe ser registrada al momento.

## IV.- PREPARACIÓN O TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

En este punto las metodologías presentan como objetivo poner las condiciones adecuadas a la muestra para mantener la conservación de los analitos de interés, para posteriormente realizarle el procedimiento analítico elegido, siendo importante indicar que la elección del o de los procedimientos analíticos escogidos marcarán dichas condiciones a la muestra.

Estas condiciones pueden ser:

- ◆ La eliminación de sólidos o semisólidos por medio de procedimientos físicos.
- ◆ El control del pH de la muestra.
- ◆ La adición de sales para favorecer la extracción de los analitos de interés.
- ◆ La adición de algún disolvente orgánico para favorecer el fluido de la muestra a través del sistema de extracción elegido.
- ◆ La cantidad o volumen que se toma de la muestra.
- ◆ Etc.

Hay que hacer notar que la preparación o tratamiento de la muestra y el procedimiento analítico se pueden visualizar como un único paso en muchas metodologías, pero en este trabajo lo diferenciamos debido a que las metodologías ambientales en general hacen una pequeña separación de éstas para controlar mejor los tiempos de trabajo de las metodologías.

Para el caso de la determinación de plaguicidas organoclorados en agua el tratamiento de muestra consiste en hacer una verificación del pH y que éste permanezca  $\leq 2$  y en caso de que la muestra contenga sólidos eliminarlos por medio de la filtración o centrifugación dependiendo del tipo, cantidad y tamaño de las partículas a ser separadas.

## V.- PROCEDIMIENTO ANALÍTICO <sup>(31)</sup>

Los objetivos fundamentales del procedimiento analítico es la separación de los analitos de interés de la muestra para su determinación posterior por la técnica analítica de determinación (casi siempre instrumental) elegida, y parte de la elección de este procedimiento analítico dependerá de la técnica de determinación elegida. Estas metodologías deben evitar al máximo la manipulación de la muestra que cause la pérdida de los analitos de interés o contaminación de la muestra por parte de otros analitos.

Los principales objetivos del procedimiento analítico son:

- ▲ Concentrar la muestra para enriquecerla, en caso de que los analitos se encuentren a concentraciones a nivel de trazas.
- ▲ Remover o reducir a los compuestos que interfieren durante la detección.
- ▲ Transferir a los analitos a una matriz adecuada para la técnica instrumental a utilizar.

Como se puede deducir la selección del procedimiento analítico depende del propósito del análisis, de la reproducibilidad que se quiera del procedimiento, de la información esperada, por ejemplo si el analista requiere determinar uno o varios compuestos en particular o realizar un sondeo de toda una familia de compuestos presentes en la muestra. Hoy en día existen diversas técnicas de preparación, algunas usadas en métodos estandarizados y otras todavía en estudio.

A partir de la década de los 80's del siglo pasado se empezaron a desarrollar "nuevas técnicas" para la extracción de compuestos de las muestras, con lo cual se ha logrado -disminuir

los tiempos de análisis, eliminar el uso de disolventes o disminuir el volumen de éstos y por lo tanto producir menores residuos que contaminen- en la parte de la preparación de muestra. Estas técnicas se pueden clasificar tomando en cuenta las propiedades físicas de los compuestos orgánicos a determinar, aunque no es lo único para su elección, ya que también son importantes las características de la matriz en la que se encuentran los compuestos a extraer y su concentración en ella.

En la actualidad se cuenta con una gran cantidad de técnicas que se pueden utilizar como procedimientos analíticos, una clasificación dependiendo del estado físico que presenta la matriz de la muestra es la siguiente:

### **Muestras sólidas**

- Extracción sólida-líquida.
- Extracción con solventes presurizados.
- Extracción con solventes asistido con Ultrasonido y Microondas.
- Extracción con fluidos supercríticos.
- Extracción con agua supercalentada.
- Dispersión en fase de matriz sólida.
- Pirolisis.
- Desorción térmica para sólidos.

### **Muestras líquidas**

- *Extracción líquido-líquido.*
- *Extracción en fase sólida.*
- *Microextracción en fase sólida.*
- *Extracción por adsorción con barra magnética (Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE, por su nombre y siglas en inglés).*
- Extracción con membranas.
- Extracción con gota sencilla.
- Cabeza de vapor sobrenadante, conocida en inglés como “Head Space”.
- Purga y trampa.

### **Muestras gaseosas**

- Extracción sólido-líquido.
- Adsorción y Desorción Térmica.

De las técnicas mencionadas anteriormente sólo se explicarán las que se reportan en la literatura para el análisis de plaguicidas organoclorados en agua y que se colocaron en letra itálica en la clasificación anterior.

## **V.1.- Métodos con Extracción Líquido-Líquido (ELL por sus siglas)**<sup>(25, 32, 33)</sup>

Ésta es una técnica de extracción clásica para analizar compuestos orgánicos en muestras acuosas, la cual da resultados satisfactorios para el recobro de compuestos como los plaguicidas. La ELL se puede definir como la transferencia de una sustancia X desde una fase líquida A a otra fase líquida B inmiscible con la anterior.

### **V.1.1.- Fundamento de la técnica.**

La manera de trabajar esta técnica con matrices acuosas es muy semejante. A una cantidad de la muestra acuosa se le extraen los analitos hidrofóbicos con una cantidad menor en volumen de disolvente orgánico (hexano, heptano, ciclohexano, cloruro de metileno, entre otros), el extracto obtenido se seca con sulfato de sodio anhidro, si es necesario se llega a filtrar para quitarle partículas del sulfato, en caso de que el extracto necesite mayor limpieza se pasa a través de una columna empacada de sílica, florisil o alúmina, posteriormente se evapora el disolvente y se lleva a un volumen menor al que se tenía de la muestra, y también se puede realizar el cambio de disolvente a uno compatible para la técnica instrumental en la que se va a analizar. El diagrama que se presenta en la figura 12 muestra la secuencia de pasos de forma general para realizar una ELL.

### **V.1.2.- Optimización del proceso de ELL.**

Para asegurar un adecuado trabajo con la técnica de ELL se presentan a continuación los puntos de optimización comunes para ello.

#### **a) Selección del disolvente para extraer.**

La selección del disolvente que se utilice para extraer debe hacerse considerando la afinidad de los analitos por éste. También se deben considerar factores como la densidad, la viscosidad, corrosividad, accesibilidad y costo de la misma.

#### **b) Selección de la técnica de agitación.**

La agitación se utiliza para la formación de pequeñas gotas entre las dos fases y de esta manera incrementar el área superficial de contacto para la transferencia de los analitos de una fase a otra; una agitación incontrolable puede causar la emulsificación de ambas fases.

#### **c) Optimización del tiempo de agitación.**

Para extraer la máxima cantidad de analito, el tiempo de agitación debe ser constante intentando en ese tiempo mantener la misma técnica de agitación, esto permitirá una adecuada repetibilidad en el análisis.

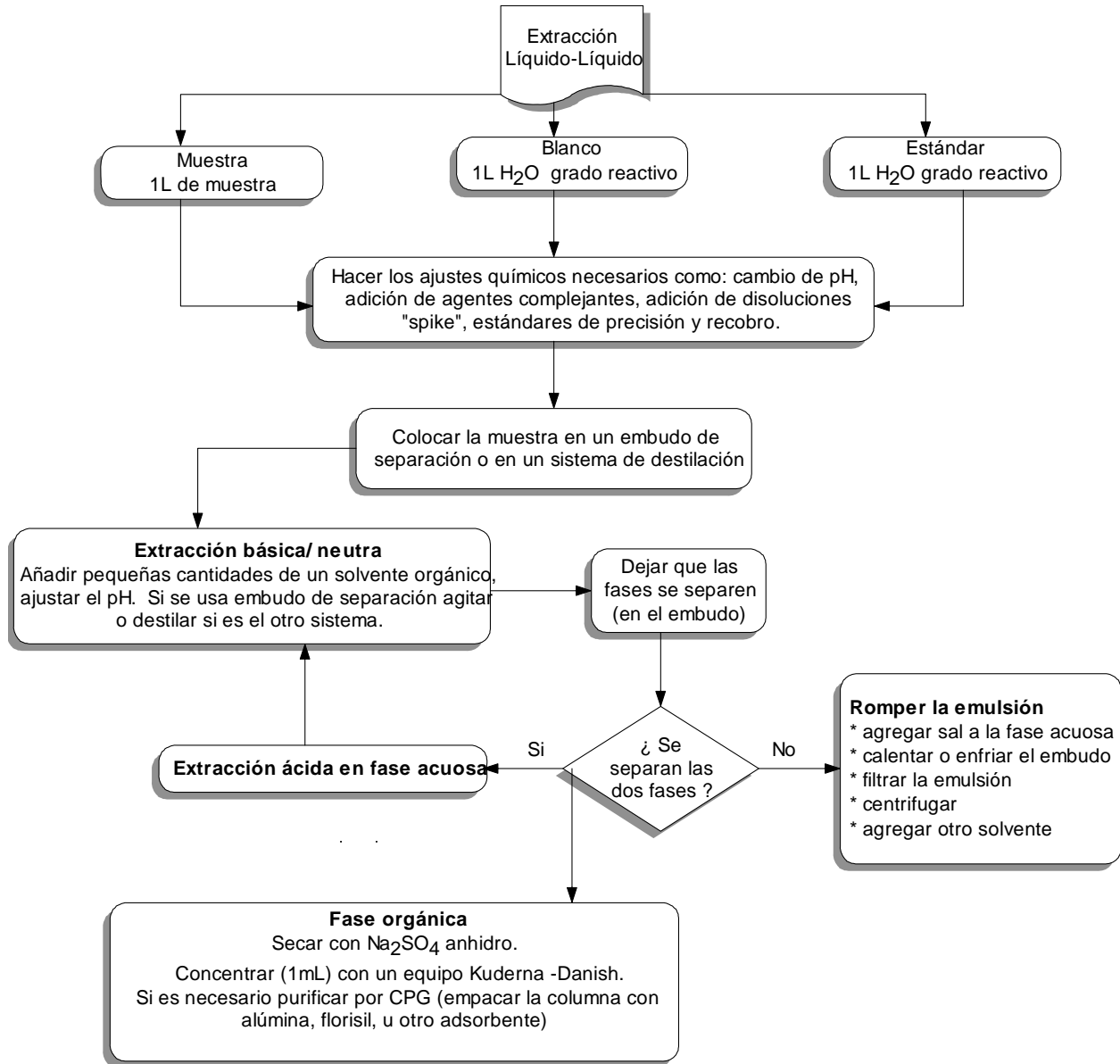
#### **d) Variación del pH.**

El valor de pH de la muestra es importante para compuestos o analitos que presenten propiedades ácido-base, por lo que se puede modificar el equilibrio de disociación de los analitos en el medio acuoso variando con ello su polaridad y por lo tanto su afinidad por la fase extractante. Por lo tanto el ajuste del pH puede mejorar el porcentaje de la extracción.

#### **e) Efecto de la adición de una sal.**

La adición de sal en muestras acuosas produce la saturación de ésta, logrando que los compuestos orgánicos sean menos solvatados y así más afines al pasar a la fase orgánica (fase extractante) aumentando el porcentaje de extracción. Además permite que no aparezcan durante el proceso de extracción emulsiones o interfases que impidan una correcta separación en la

decantación de las capas acuosa y orgánica, especialmente, cuando se trata de extracciones con cloruro de metileno. La adición de la sal se realiza añadiendo unos mililitros de salmuera y agitando de nuevo.



Reactivos	Solventes orgánicos
* Agua grado reactivo	* Hexano
* Disolución ácida ( $H_2SO_4$ )	* Heptano
* Disolución básicas (NaOH)	* Cloroformo
* Sal (NaCl).	* Cloruro de metileno
* Disolución Spike (isótopos para CG/EM).	* Acetato de etilo u otros ésteres
* Disolución estándar (plaguicidas)	* Xileno, Tolueno
* Solventes orgánicos	* Combinación de dos o más solventes
	* Alcoholes o cetonas alifáticas

Figura 12.- Extracción líquido-líquido<sup>(33)</sup>

Muchos de los métodos de análisis publicados involucran a la ELL, como toda técnica tiene sus ventajas y desventajas.

Ventajas:

- Es la técnica indicada en una gran cantidad de métodos estandarizados, oficiales y para la validación en la determinación de contaminantes (tabla XI).
- Es una técnica que cuenta con una gran cantidad de información en la literatura así como de métodos en que se aplica.
- No requiere de aparatos especiales para trabajarla.
- Se utilizan disolventes comunes de uso en el laboratorio.
- El uso de la ELL ha simplificado el problema para la determinación del contenido total de plaguicidas no polares en aguas que tienen un contenido alto de sólidos suspendidos.

MÉTODO	MODO DE EXTRACCIÓN	INSTRUMENTO DE DETECCIÓN	LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO (µg/L)
USEPA 505 <sup>(30)</sup>	A 5 mL de muestra extraer con 2 ml de hexano.	CG/DCE	0.002-6.8
USEPA 508 <sup>(14)</sup> USEPA 608 <sup>(34)</sup>	En 1 L de muestra extraer con 60 mL de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> por triplicado. Concentrar a 5 mL.	CG/DCE	0.0015-5
USEPA 8081 <sup>(35)</sup>	Hidrolizar la muestra ajustando a pH neutro, extraer con CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .	CG/DCE	0.02-1.3
* EN ISO 6468 <sup>(36)</sup>	Extraer con solventes orgánicos (hexano, heptano, éter) concentrar a 1 mL.	CG/DCE	0.001-0.01
** USGS 1104-83 <sup>(37)</sup> .	Extraer con hexano y evaporar a 0.5 mL	CG/DCE	0.01
USGS 1105-83 <sup>(38)</sup> .	Extraer con dietil éter, hidrolizar para liberar a los ácidos, metilar con trifluoruro de boro- metanol y purificar por cromatografía.	CG/DCE	0.01
ASTM D 5812 <sup>(39)</sup>	Extraer con CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	CG/DCE	0.02-50
ASTM D 5175 <sup>(40)</sup>	Extraer con Hexano	CG/DCE	0.04-70

\* Organización Internacional para la Estandarización (International Organization for Standardization, nombre en inglés, ISO por como se conoce).

\*\* Estudio Geológico de los Estados Unidos de Norteamérica (United State Environmental Geological Survey, USGS por su nombre y siglas en inglés).

Tabla XI.- Ejemplos de métodos estandarizados que emplean extracción líquido-líquido para la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras de agua

### Desventajas:

- El uso de grandes volúmenes de disolventes (en el orden de por lo menos 100 mL), lo que provoca la obtención de grandes volúmenes de residuos y por lo tanto de las técnicas aplicadas la que produce mayor contaminación.
- Se pueden generar emulsiones entre las fases utilizadas.
- Extrae otros contaminantes no polares que estén presentes en la muestra, por lo que posteriormente es necesario un proceso de limpieza para eliminar a los compuestos que interfieran en la determinación de los plaguicidas.

### **V.1.3.- Metodologías que aplican la ELL para pesticidas organoclorados en agua.**

La extracción con n-hexano es selectiva para plaguicidas de tendencia no polar, mientras que la extracción con diclorometano cubre un amplio intervalo de polaridades pero obviamente suceden interferencia en la matriz. Al hacer uso de otros disolventes como el acetato de etilo o el terbutyl éter se debe revisar su compatibilidad con el tipo de detector que se pretende usar en la técnica analítica.

Debido al gasto de disolventes que la técnica de ELL requiere se ha desarrollado esta misma técnica a niveles micro donde el uso de disolventes es menor como lo muestra el método 505<sup>(30)</sup> de la USEPA y 5175<sup>(40)</sup> de ASTM, el cual consiste en tomar 5 mL de la muestra, se agregan 6g de NaCl, después se añaden 2 mL de hexano, se agita de forma vigorosa, posteriormente se deja que se separen ambas fases para tomar 0.5 mL de la fase orgánica sin tomar parte del agua, el resto de hexano se mantiene en refrigeración. Del 0.5 mL de hexano se inyectan entre 1-2  $\mu$ l en el cromatógrafo de gases. Por otro lado el surgimiento de técnicas de inyección de flujo (Flow Injection Analysis, FIA por sus siglas en inglés) abre nuevas perspectivas para evitar el uso de grandes cantidades de disolventes orgánicos, esta técnica se enfoca al pretratamiento de la muestra en línea para evitar la mayor manipulación de las mismas de forma que se logre su automatización, por medio de la inyección de un bolo de muestra y un flujo continuo de disolvente orgánico los cuales se dispersan en un embobinado de PTFE (politetrafluoretileno) seguido de la separación de la fase orgánica de la acuosa.<sup>(41)</sup>

En la figura 13 se muestra el diagrama del método estándar 508 de la USEPA que enseña la secuencia de la ELL para extraer plaguicidas organoclorados.

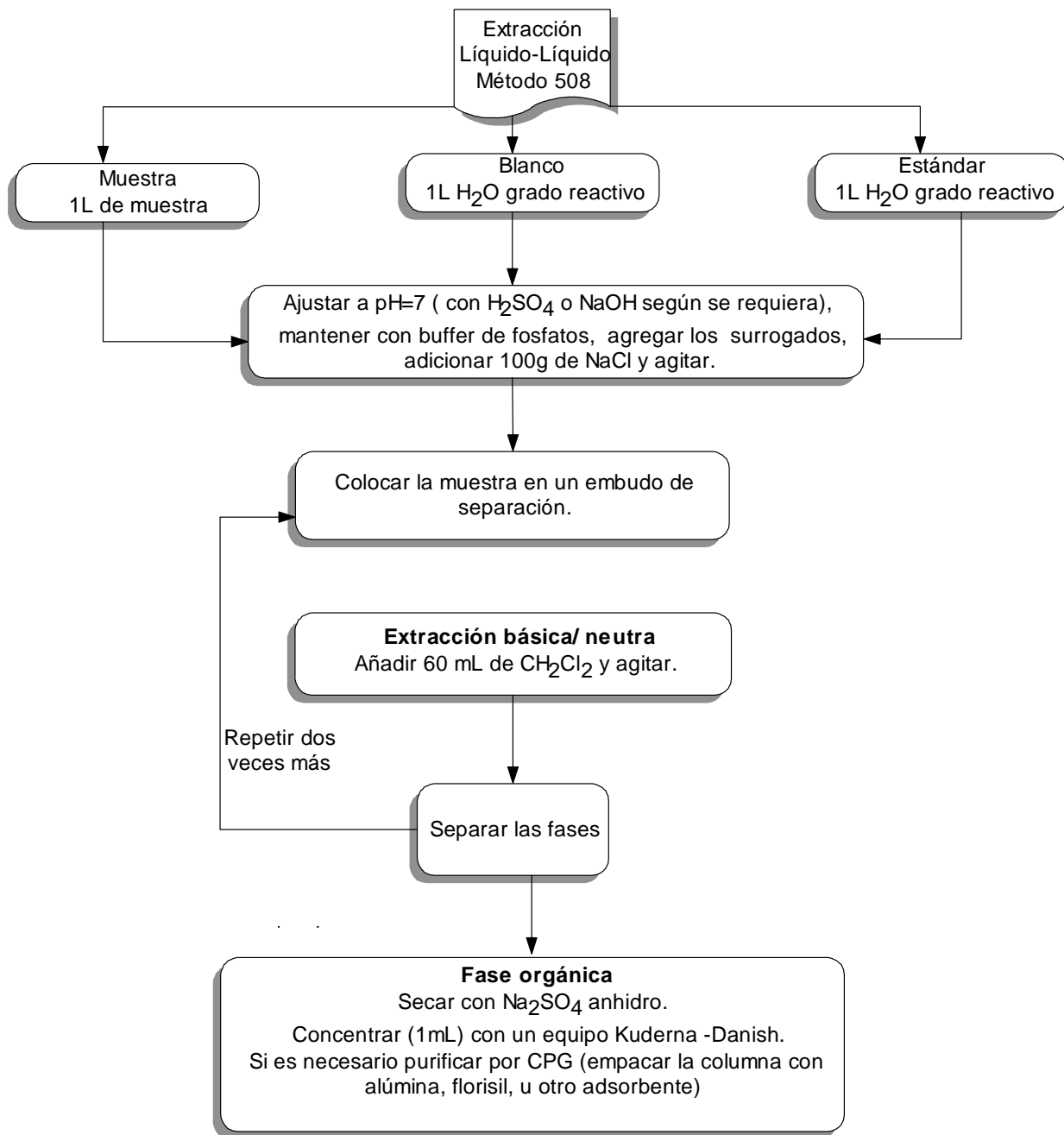


Figura 13.- Método USEPA 508<sup>(14)</sup>



## V.2.- Métodos con Extracción en Fase Sólida (EFS por sus siglas) <sup>(25, 31, 42, 43, 44, 45)</sup>

La técnica de extracción en fase sólida (Solid Phase Extraction o SPE por su nombre y siglas en inglés), es de las nuevas técnicas de preparación de muestra de las más empleadas en la determinación de plaguicidas; en las últimas décadas la EFS se ha desarrollado intensamente y esta técnica se ha convertido en una alternativa poderosa con respecto a la ELL debido a su simplicidad, flexibilidad, y alto rendimiento. Ventajas adicionales incluyen la reducción del consumo de disolventes tóxicos, lo que hace a la técnica segura, disminuye la necesidad de evaporación de los disolventes y la técnica de EFS es automatizable (en la actualidad se venden aparatos automatizados).

### V.2.1.- Fundamento de la técnica.

La EFS es una técnica de separación física que involucra a una fase estacionaria sólida (adsorbente) y a una líquida, en ésta última es donde se encuentra disuelto el analito de interés. El dispositivo para EFS consiste en un contenedor en forma de una columna, en la mayoría de los casos, donde se empaqueta la fase adsorbente, también se puede tener una configuración en forma de disco, figura 14; la muestra disuelta que contiene a los analitos se pasa a través del adsorbente, de manera que los compuestos presentes pueden atravesar la fase o ser retenidos en los sitios activos de la misma, esto depende de la preferencia que presenten los compuestos hacia el adsorbente o hacia el disolvente de la muestra esto fisicoquímicamente dependerá de la constante de equilibrio de los analitos entre estas 2 fases. Finalmente si los analitos de interés son adsorbidos en la fase estacionaria se buscará que éstos sean eluidos (desorbidos) posteriormente con una pequeña cantidad de algún disolvente (eluyente) adecuado.

Hay que hacer notar que la idea general del sistema es que los analitos de interés se retengan fuertemente en la fase adsorbente primero y posteriormente sean eluidos totalmente con un volumen pequeño de otro disolvente, lo que permitirá eliminar analitos no deseables y concentrar a los de interés.

Para que la fase líquida pueda atravesar a la sólida generalmente se aplica presión (pudiendo ser negativa o positiva) la cual en la mayoría de los casos se logra por medio de vacío, para ello se requiere normalmente de un aparato (conocido en inglés como Manifold) que tiene un sistema de vacío, figura 15, pero se pueden aplicar centrifugación y presión con gas, en la mayoría de los casos éstos se conocen como sistemas fuera de línea (off line en inglés) con el instrumento analítico a emplear. También hay aparatos automatizados que se trabajan en línea (online en inglés) con el cromatógrafo respectivo en donde la salida del sistema de EFS está conectada directamente a los inyectores de éstos y la muestra pasa hacia la columna analítica.

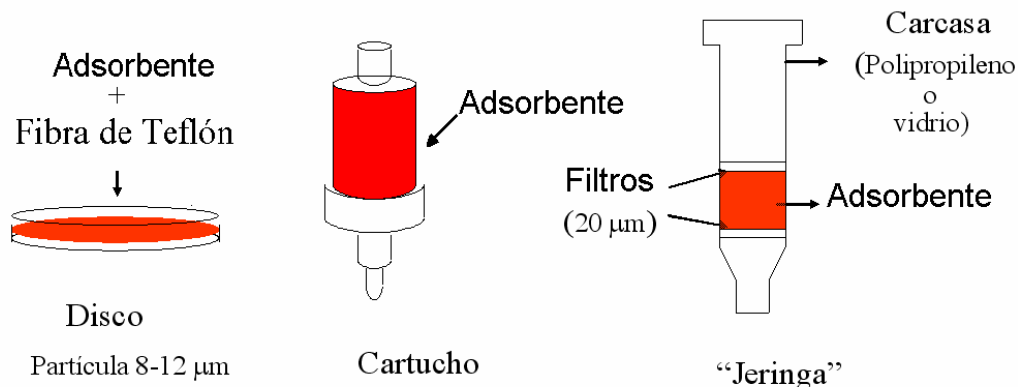


Figura 14.- Dispositivos contenedores de la fase sólida adsorbente para EFS

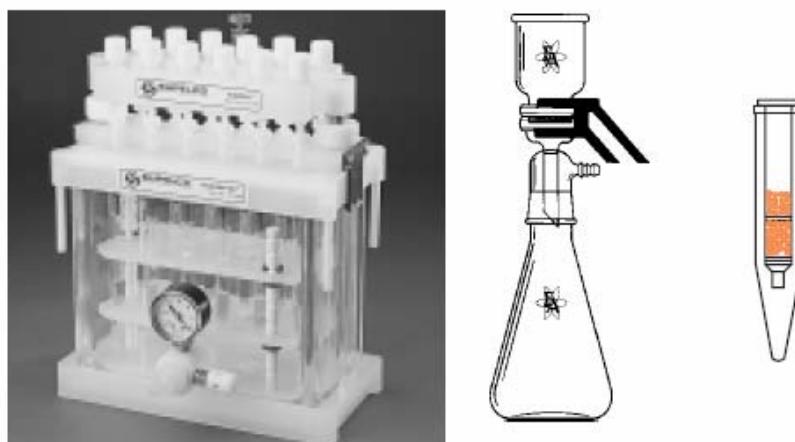


Figura 15.- Aparatos utilizados para realizar la EFS (“Manifold”, Millipore y Centrifugación)

La EFS se puede realizar con diferentes fines:

- a) Limpieza. La finalidad es lograr la separación del compuesto de interés de las impurezas, para ello el analito que proviene de un volumen pequeño de muestra (10mL) puede pasar a través del adsorbente donde las impurezas son retenidas, también existe la otra modalidad en que el analito es retenido y las impurezas son eluidas, y el analito retenido se eluye posteriormente del adsorbente con un volumen de disolvente semejante al que se adicionó de muestra, figura 16. La forma de trabajar depende del compuesto de interés, de la matriz y adsorbente que se utilice, pero siempre con la idea de alcanzar la separación del analito de las impurezas.
- b) Extraer y preconcentrar. Aquí se usa un volumen mayor de muestra (por lo regular más de 100 mL) debido a que los analitos de interés se encuentran diluidos en el orden de trazas ( $\leq$  a ppm) en la muestra líquida; por lo que el adsorbente retiene a los analitos y posteriormente son eluidos con un volumen menor de disolvente (eluyente). Se puede trabajar con diferentes modalidades dependientes del adsorbente que se utilice (fase inversa, fase normal, etc.) y dependiendo de las características del analito o analitos de interés. Un ejemplo es la concentración de los compuestos orgánicos que se encuentran en fase acuosa en cantidades trazas, donde el uso de la EFS en fase inversa es una buena opción. Durante la preconcentración no necesariamente se consigue la limpieza del analito por lo que algunas veces se requiere hacer limpieza del adsorbente antes de la elución selectiva o pasar nuevamente los compuestos retenidos por otra columna donde se pueda lograr la separación del analito de sus impurezas.
- c) Cambio de matriz. En ésta los analitos son retenidos por el adsorbente y se eluyen con un disolvente diferente al de la matriz pero en ambos casos se utiliza el mismo volumen. Al realizar esta forma de trabajo se puede hacer la limpieza del analito y su preconcentración, siempre y cuando se encuentren las condiciones adecuadas para ello.

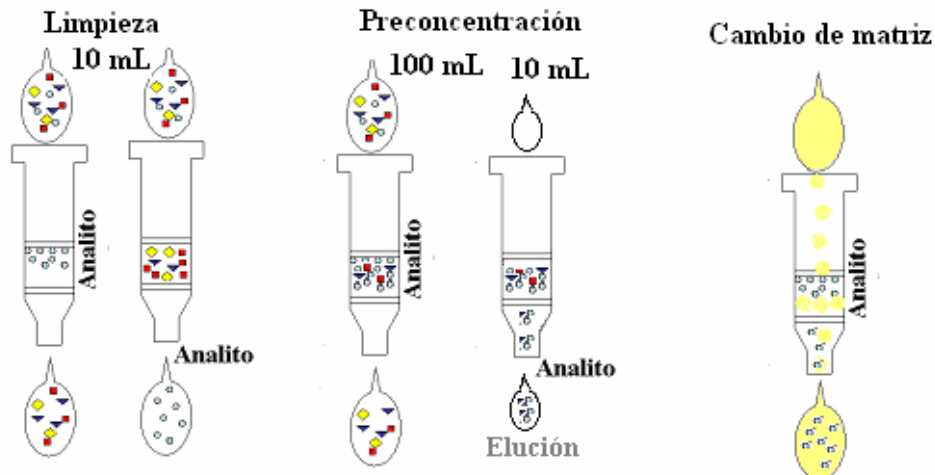


Figura 16.- Formas de trabajo de la EFS

En general los pasos que se requieren para realizar la extracción en fase sólida (figura 17) consisten en primer lugar el **acondicionamiento de la columna** cuyo objetivo es solvatar los grupos funcionales del adsorbente, lo anterior es importante ya que los analitos no podrán interactuar con estos grupos si no se encuentran totalmente “activados” para lograr la interacción. De paso, se logra realizar una limpieza del cartucho por si éste tuviera alguna impureza debida a su fabricación. Aquí es importante que no se deje secar la columna, para evitar la desactivación de los grupos funcionales. El siguiente paso es la **adición de la muestra** en la columna, que para atravesar al adsorbente generalmente se aplica una presión de vacío o presión positiva, a un flujo controlado, el cual no debe ser muy alto ya que no permitirá interactuar a los compuestos con el adsorbente. Posteriormente se sigue con el **lavado de la columna** con un solvente adecuado que selectivamente eluya las impurezas pero permita que el analito de interés se quede en la columna (según el fin que se persiga). Finalmente se realiza la **elución del analito** con un disolvente adecuado para que desplace (eluya) al analito del adsorbente.

La secuencia típica de extracción se puede resumir en la figura 17 donde se observan los cuatro módulos de la EFS.

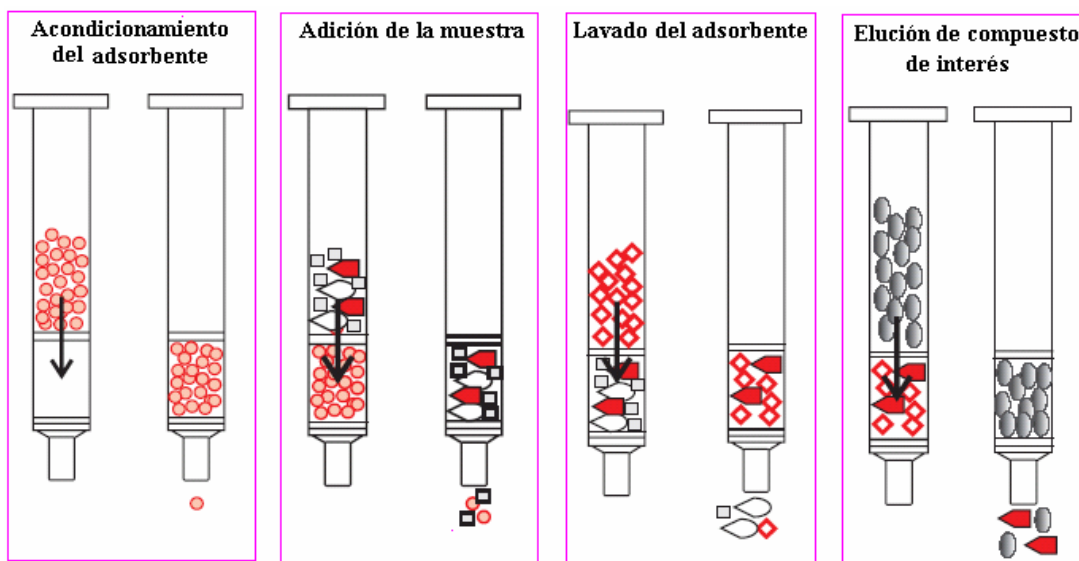


Figura 17.- Pasos para realizar la extracción en fase sólida

Dentro del esquema se observa que cada uno de estos pasos consume tiempo y disolventes, sin embargo éstos son menores con respecto a la ELL.

Algunos factores que influyen en la eficiencia del proceso de la EFS son su capacidad de adsorción, así como su capacidad de retención. Una insuficiente capacidad de adsorción en la superficie del adsorbente puede causar su sobresaturación y consecuentemente deja libre al analito, aunque para trazas esta propiedad no se ve afectada. El factor más crítico es la retención del analito la cual debe ser máxima en la adsorción y mínima durante la elución, la existencia de estas dos contradicciones implica hacer una adecuada selección de las condiciones de trabajo para obtener concentraciones óptimas durante la adsorción y elución. Los factores antes mencionados a su vez se ven afectados por el pH, por el flujo de elución, por una elección adecuada de la fase, por su acondicionamiento óptimo, entre otros. En la figura 18 se presenta un diagrama de trabajo que toma en cuenta estos factores.

Actualmente dependiendo de su accionar y polaridad existen diferentes fases sólidas, de distinto espesor y tamaño, que proporcionan un intervalo amplio de polaridades, de tal forma que la EFS puede emplearse para determinar un extenso grupo de compuestos. Los primeros adsorbentes comercializados fueron los polares como la sílica, pero éstos han ido aumentando progresivamente y actualmente cubren un amplio conjunto de aplicaciones, destacando las resinas químicamente unidas (que permiten polaridades desde polares a no polares), sílica químicamente unida, de intercambio iónico para remover iones de moléculas orgánicas e incluso iones metálicos o proteínas en disoluciones acuosas, y por tamaño de exclusión.

Es importante recordar que la retención de los compuestos en los adsorbentes dependerá de los grupos funcionales presentes en las moléculas y el adsorbente utilizado debido a las interacciones moleculares como: dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido, iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de dispersión (fuerzas de Van der Waals o London).

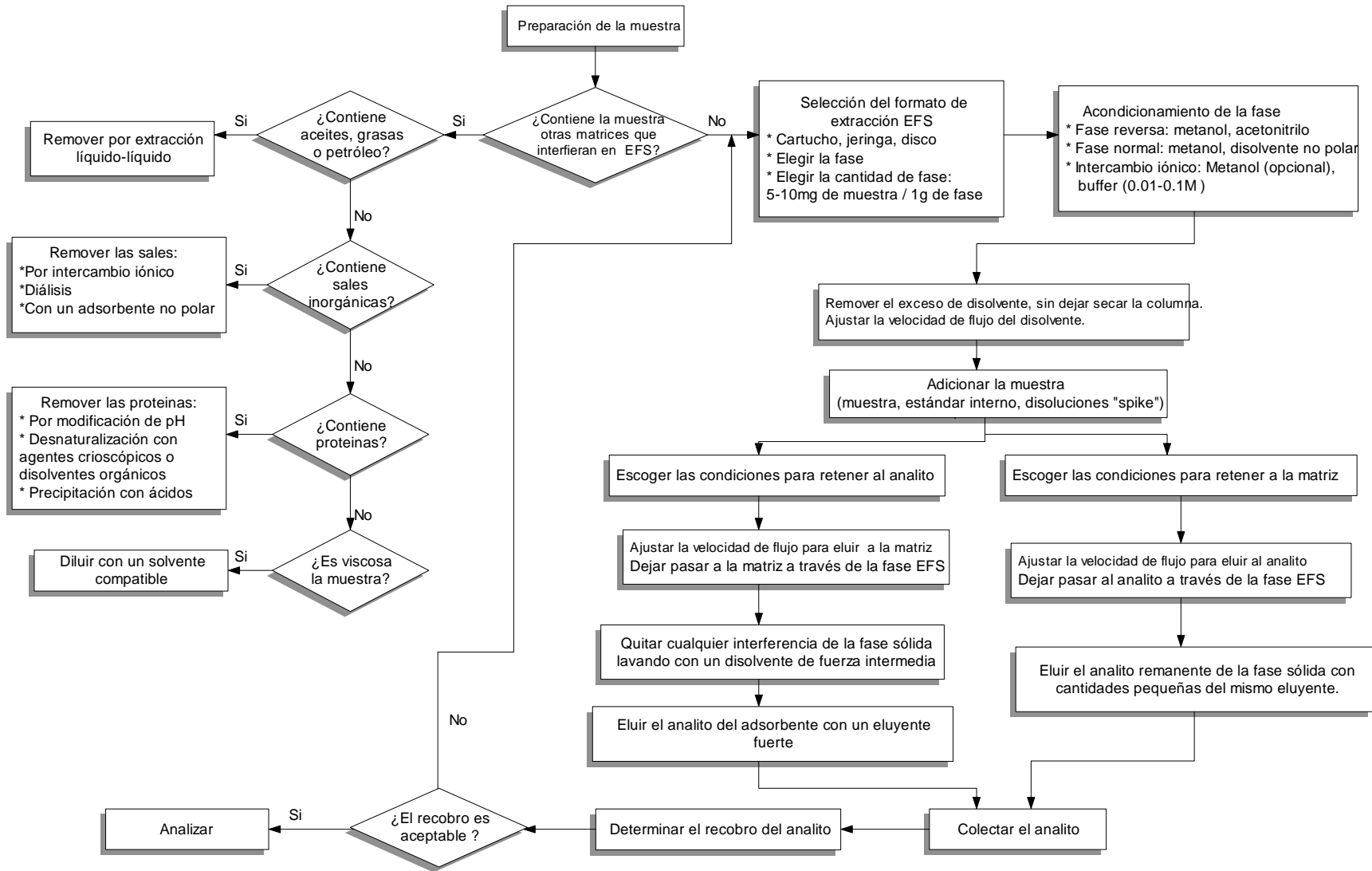


Figura 18.- Diagrama de secuencia de extracción en fase sólida<sup>(33)</sup>

La EFS se puede clasificar dependiendo del tipo de adsorbente que se tenga, como:

**\*Fase inversa.-** Se refiere cuando el adsorbente es de tendencia menos polar que la fase líquida de donde se encuentra la muestra atrapando en general analitos con mediana o baja polaridad; el mecanismo de retención es debida a las fuerzas de dispersión o de Van der Waals débiles lo que da interacciones hidrofóbicas entre el adsorbente y el disolvente de la muestra o del eluyente que se utilice. El proceso de trabajo de esta opción es:

1. Adsorbente de tendencia no-polar (C<sub>18</sub>, C<sub>8</sub>, ciclohexil, fenil, copolímeros y carbón grafitado).
2. Analitos de tendencia no-polar a ligeramente polar, que se encuentren en una matriz polar, principalmente acuosas.
3. Disolvente para elución de tendencia menos polar que la matriz (metanol a hexano) pero dependiendo de la fuerza de interacción del analito con el adsorbente y la solubilidad con el eluyente.

Un ejemplo del uso de la EFS de fase inversa es la extracción de compuestos como los plaguicidas, drogas o péptidos mostradas en la tabla XII.

ADSORBENTE	GRUPO FUNCIONAL DEL ANALITO	DISOLVENTE PARA ELUIR	APLICACIÓN
Octadecil (C <sub>18</sub> )	Cadenas alquílicas Anillos aromáticos	Metanol Acetonitrilo Acetato de etilo Cloroformo Hexano	Plaguicidas Drogas Péptidos
Octil (C <sub>8</sub> )			
Etil (C <sub>2</sub> )			
Ciclohexil			
Cianopropil			
Fenil			

Tabla XII.- Adsorbentes de fase inversa utilizados en EFS para la extracción de compuestos no polares

**\*Fase normal.-** Se basa en separar compuestos o analitos de tendencia polar debido a que el adsorbente es de tendencia más polar que la muestra líquida en el que se encuentran éstos, aquí el mecanismo de retención es por atracciones dipolo-dipolo o puentes de hidrógeno. El proceso de trabajo de esta opción es:

1. Adsorbente de tendencia polar (-CN, -NH<sub>2</sub>, diol (-HCOH-HCOH-), sílica gel, florisil, alumina).
2. Analitos de tendencia polar a medianamente polares, o con grupos funcionales que puedan formar puentes de hidrógeno, que se encuentren en una matriz de tendencia medianamente a no-polar.
3. Disolvente para elución de mediana a alta polaridad.

**\*Intercambio iónico.-** Se usa para extraer compuestos ácidos o básicos de disoluciones acuosas, por intercambio iónico con el adsorbente, donde las interacciones iónicas son las fuerzas primarias involucradas en el mecanismo de retención. Existen factores que pueden afectar el

intercambio iónico como: pH, el tipo de contraión, la fuerza iónica, tipo de disolvente, velocidad de flujo. El proceso de trabajo de esta opción es:

1. Adsorbente de tendencia iónica; sílica con grupos funcionales  $-\text{HSO}_3^{2-}$  (intercambiador catiónico) y  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  (intercambiador aniónico).
2. Analitos de tendencia iónica (de carga contraria al grupo funcional del adsorbente iónico) que se encuentren en una matriz cuya concentración del contraión del adsorbente sea muy baja.
3. El disolvente para la elución debe neutralizar las cargas, pero depende de la fuerza de interacción del analito con el adsorbente e incluso de la solubilidad del analito con el eluyente, debido que al pasar a su forma neutra algunas veces éste puede perder solubilidad en la fase móvil.

**\*Exclusión molecular.-** El sistema está constituido de una fase sólida con un tamaño de porosidad controlado, la cual se usa para remover moléculas de determinado tamaño durante la elución; idealmente no debe existir adsorción del analito en el adsorbente ni tampoco alguna otro tipo de interacción ya que la exclusión es debida al tamaño de las moléculas. El proceso de trabajo de esta opción es:

1. Pueden funcionar como adsorbente para ciertos polímeros entrecruzados.
2. Pueden atrapar analitos como proteínas, ADN, entre otros.

### **V.2.2.- Optimización del proceso de EFS.**

Para asegurar un adecuado trabajo con la técnica de EFS se presentan a continuación los puntos de optimización comunes para ello.

#### **a) Selección del dispositivo contenedor de la EFS.**

La selección del dispositivo depende del aparato con el que se disponga en el laboratorio, por ejemplo si se usa un dispositivo de jeringa, disco o cartucho, y si se requiere por fuerza un equipo Manifold, otro factor a considerar es el volumen de la muestra a trabajar. Hay que considerar que dependiendo también del tamaño del dispositivo también será la cantidad de adsorbente que se tendrá para trabajar.

#### **b) Selección del adsorbente.**

Su elección depende del analito de interés, de la matriz a trabajar, de la presencia de otros compuestos en la muestra y por supuesto del formato que se quiera trabajar (fase normal, inversa o intercambio iónico, etc.). También es importante seleccionar la capacidad de carga del adsorbente, la cual permite manipular la cantidad total de compuesto (analito o interferencias) que pueden ser retenidos de una muestra específica; la capacidad de la columna es específica para cada analito y es muy importante para evitar saturar al adsorbente.

#### **c) Selección del disolvente.**

Aquí se debe considerar el disolvente para acondicionar a la columna y otro para la elución de los analitos. La elección depende del formato que se quiera trabajar para escoger el disolvente adecuado; existen tablas que ayudan un poco a decidir que disolvente usar con respecto al formato que se trabaje, aunque mucho depende de la experiencia del analista, del costo y accesibilidad, incluso se puede usar una mezcla de disolventes con modificación del pH.

#### **d) Optimización de la velocidad de flujo.**

Al adicionar la muestra al adsorbente el flujo debe ser el suficiente que permita que la muestra pase a través de todo el adsorbente y se tenga el tiempo suficiente para la interacción con el analito de interés, para el caso de la elución un flujo adecuado permitirá el tiempo suficiente para la interacción del analito con el disolvente haciendo una extracción cuantitativa. Esto se tiene que conocer de manera adecuada para tener una buena repetibilidad en el análisis.

**e) Variación del pH.**

El valor de pH de la muestra es importante para compuestos o analitos que presenten propiedades ácido-base, por lo que se puede modificar el equilibrio de disociación de los analitos en el medio acuoso variando con ello su polaridad y por lo tanto su afinidad por el adsorbente o por el disolvente.

**f) Efecto de la adición de una sal.**

La adición de sales en la muestra influye en la retención de analitos iónicos debido a que compete por lo sitios activos del adsorbente. La fuerza iónica baja puede favorecer a la retención de un analito iónico de interés, mientras que una fuerza iónica alta favorece su elución.

**V.2.3.- Metodologías que aplican la EFS para plaguicidas organoclorados en agua.**

En el caso de los analitos que se estudian en este trabajo el formato de extracción en discos se ha convertido en la técnica preferida por algunos métodos oficiales de la USEPA para el rastreo de plaguicidas en agua potable como lo indican los métodos USEPA 525 y 515<sup>(46)</sup>, debido a que su estructura permite un mayor flujo de muestra a través de él, de forma uniforme y se evita pérdida del recobro debido a que hay una menor resistencia a la obstrucción por el espaciamiento entre canales. El procedimiento general de extracción del método USEPA 525 se muestra en forma de diagrama en la figura 19.

Las características generales de los dos métodos de la USEPA antes mencionados se muestran en la tabla XIII.

Dada la gran popularidad de la EFS debido a las ventajas antes mencionadas, esta técnica se ha convertido en la alternativa más común en la preparación de muestras acuosas para el análisis de plaguicidas publicadas en diversos artículos de revistas científicas. En la tabla XIV se muestra una lista de varios artículos que usan la EFS para la extracción de plaguicidas organoclorados en agua.



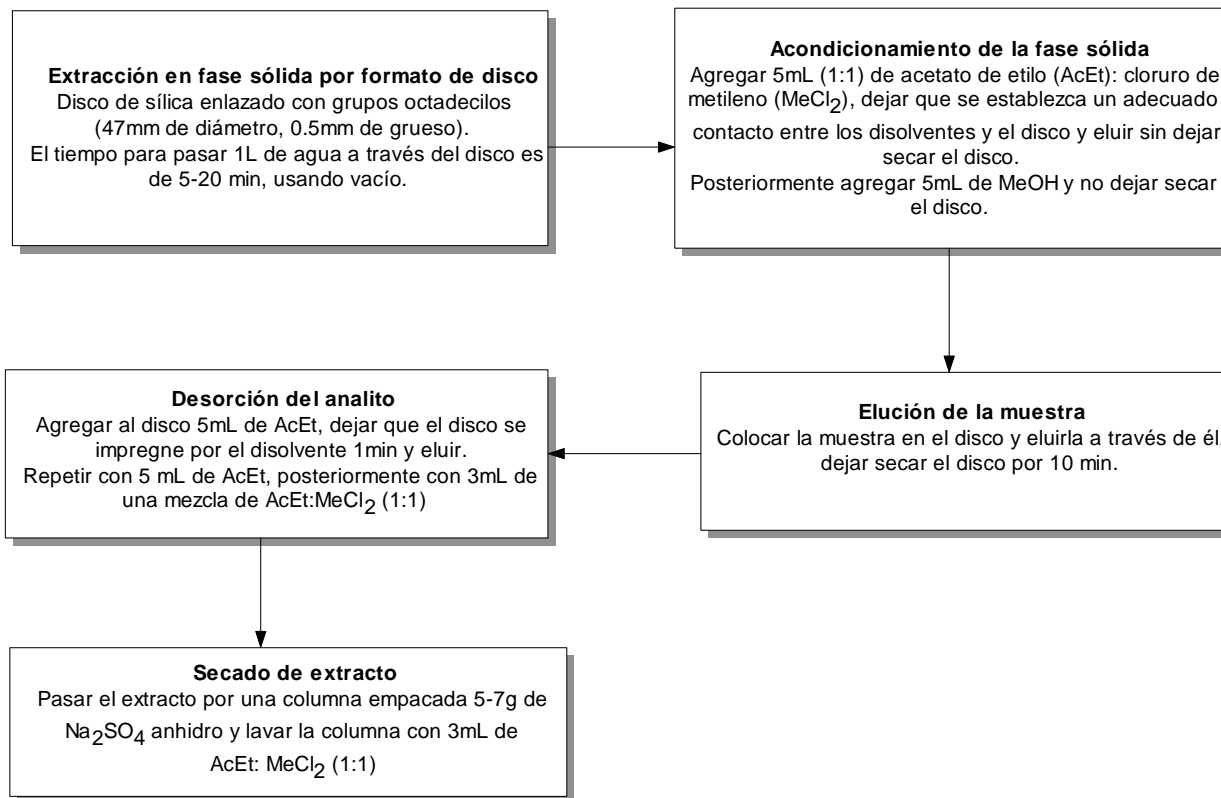


Figura 19.- Método USEPA 525 para aplicar la EFS<sup>(15)</sup>

MÉTODO	MODO DE EXTRACCIÓN	INSTRUMENTO DE DETECCIÓN	LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO (mg/L)
USEPA 525 <sup>(15)</sup>	Discos con adsorbente octadecil (C <sub>18</sub> ).	CG/EM	0.03-2.8
USEPA 515 <sup>(46)</sup>	Discos con adsorbente octadecil (C <sub>18</sub> ), base resina.	CG/DCE	0.03-2.8

Tabla XIII.- Métodos estandarizados con la técnica de extracción en fase sólida para la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras de agua potable

ANALITO	MUESTRA/ ADSORBENTE	MODO DE EXTRACCIÓN	DETECCIÓN	REFERENCIA
PCB's <sup>(1)</sup> , OPC's	Agua/ copolimero PLRP-S	En línea	CG/EM	A.J.H. Louter, (1996) <sup>(47)</sup>
Plaguicidas organoclorados y organofosforados	Agua/ XAD-2, XAD-7*	Fuera de línea	CG/DCE	I. Tolosa (1996) <sup>(48)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua con sedimento/ C <sub>18</sub>	Fuera de línea	CG/DCE	K.K Chee (1996) <sup>(49)</sup>
Plaguicidas	Agua/ C <sub>8</sub> o C <sub>18</sub>	Fuera de línea	CG/DCE	E. Viana (1996) <sup>(50)</sup>
Plaguicidas	Agua/ C <sub>18</sub>	Fuera de línea	CG/DCE	C. de la Colina (1996) <sup>(51)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua potable/ C <sub>8</sub>	En línea	CG/DCE	Wendy C. Quayle (1997) <sup>(52)</sup>
Plaguicidas organoclorados y organofosforados	Agua/ EVB y DVB**	Fuera de línea	CG/DCE/EM	C. Aguilar (1997) <sup>(53)</sup>
Plaguicidas	Agua/ C <sub>18</sub>	Fuera de línea	CG/DCE y CLAP/Fluore- sencia	I. Vassilakis (1998) <sup>(54)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua/ C <sub>18</sub>	Automatizado	CG/DCE	Almudena Columé (2001) <sup>(55)</sup>
Plaguicidas	Agua/ PS-DVB***	Fuera de línea	CG/DCE CG/DTE	Basri Gülbakar (2008) <sup>(56)</sup>
Compuestos Orgánicos (OPC's)	Agua/ PS-DVB***	Fuera de línea	CG/DCE CG/DTE	M. Guardia Rubio (2007) <sup>(57)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua de lago/ XAD-2	Fuera de línea	CG/DCE	Steven G. Ellis (2008) <sup>(58)</sup>

\*Amberlitas XAD-2, XAD-7, \*\*Etilvinilbenceno (EVB)-divinilbenceno (DBV), \*\*\* Poliestireno- divinilbenceno (PS-DVB)

<sup>1</sup> PCB (Bifenilos policlorados)

Tabla XIV.- Artículos con aplicaciones de la extracción en fase sólida para la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras acuosas

### V.3.- Microextracción en fase sólida (MEFS por sus siglas) <sup>(25, 31, 59, 60, 61, 62, 63, 64)</sup>

La Microextracción en Fase Sólida (SPME por sus siglas en inglés) se ha empleado principalmente en la extracción de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles de muestras acuosas, generalmente ambientales, biológicas y alimentos, aunque es útil también en muestras sólidas y gaseosas. La MEFS fue empleada por primera vez por Pawliszyn y colaboradores en 1990, pero su aplicación para el análisis de residuos de herbicidas fue reportada en 1995 por Boyd-Boland y Pawliszyn para la determinación de herbicidas que contienen grupos nitrógeno, desde entonces esta técnica ha sido utilizada ampliamente en diferentes clases de herbicidas en muestras ambientales (suelo y agua) y biológicas (sangre, orina y suero) <sup>(25,31)</sup>. Aunque no se tiene ningún método normado que la aplique es muy reportada en artículos.

#### V.3.1.- Fundamento de la técnica.

La MEFS se basa en los equilibrios de reparto de los analitos entre la muestra y la fase estacionaria polimérica que se utiliza para atraparlos (conocida como fibra), posteriormente éstos son desorbidos de manera térmica en el inyector de un cromatógrafo de gases. El transporte de los analitos desde la matriz hasta la fibra inicia desde que la fibra entra en contacto con la muestra y termina cuando la concentración de analito ha alcanzado el equilibrio de distribución entre la fibra y la muestra <sup>(62)</sup>. El dispositivo para MEFS consiste en un contenedor de la fibra parecido a una jeringa, éste contiene una barra de acero inoxidable semejante a una aguja dentro de la cual está la fibra de sílice fundida, la cual puede ser expuesta o retraída dentro de la aguja por medio de un émbolo (figura 20). La fibra de sílice fundida está recubierta en su parte externa con una capa relativamente delgada (del orden de  $\mu\text{m}$ ) de alguna de las fases estacionarias poliméricas, en la cual los analitos orgánicos son adsorbidos desde la matriz de la muestra.

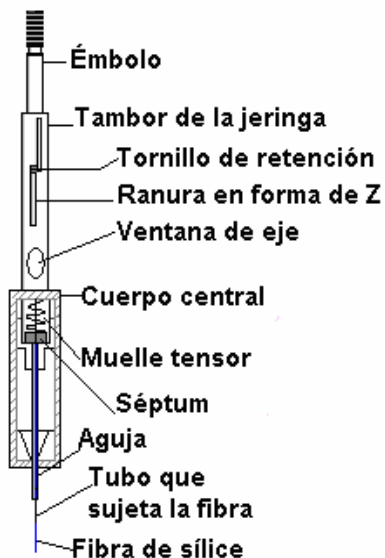


Figura 20.- Esquema del dispositivo de Microextracción en fase sólida (MEFS)

#### Fibras

Actualmente existen fibras con diversos recubrimientos y diferentes espesores, que proporcionan un intervalo amplio de polaridades, de tal forma que la MEFS puede emplearse para determinar un amplio grupo de compuestos. Los primeros recubrimientos comercializados

fueron los de polidimetilsiloxano (PDMS por sus siglas) y poliacrilato (PA por sus siglas) pero los recubrimientos han ido aumentando progresivamente y actualmente cubren un amplio conjunto de aplicaciones, destacando de éstas:

- Polidimetilsiloxano (PDMS).
- Poliacrilato (PA).
- Polimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB por sus siglas).
- Carboxen o carbón activado poroso (CAR por sus siglas).
- Polientilenglicol o carbowax/divinilbenceno (CW/DVB por sus siglas).
- Polietilenglicol/resina templada (CW/RTP por sus siglas).
- Carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS).
- Fibras con materiales especializados, como fibras de intercambio iónico para remover iones metálicos y proteínas en disoluciones acuosas.

Es importante recordar que la retención de los compuestos en las fibras dependerá de los grupos funcionales presentes en las moléculas y la película de polímero de la fibra utilizado, debido a las interacciones moleculares como: dipolo-dipolo, dipolo-dipolo inducido, iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de dispersión (fuerzas de Van der Waals o London).

### Modos de extracción

Existen tres modos de trabajo en la MEFS (figura 21):

- 1) Extracción directa (SPME/DE por sus siglas en inglés). En este modo la fibra se sumerge directamente en muestras líquidas y los analitos son transportados directamente de la matriz de la muestra hacia la fase polimérica (fibra).
- 2) En vapor confinado (SPME/HS por sus siglas en inglés). En este modo la fibra se expone a la fase vapor que existe sobre una muestra, los analitos son transportados a través de la fase vapor enriqueciendo la fibra, este modo se utiliza para extracción de compuestos volátiles, de tal manera que la fibra se encuentra protegida de interferencias como compuestos de alto peso molecular y/o de compuestos no volátiles presentes en la muestra.
- 3) Extracción protegida con membrana (SPME/MP por sus siglas en inglés). En este modo la fibra se protege utilizando una membrana que le sirve como barrera para aquellas muestras con muchas interferencias.

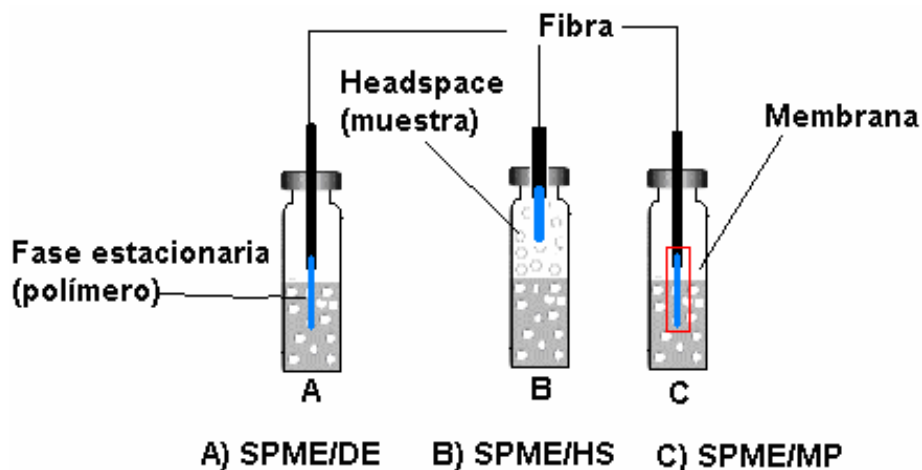


Figura 21.- Tipos de extracción para SPME

### **V.3.2.- Optimización del proceso de MEFS<sup>(62)</sup>**

En la MEFS los analitos son extraídos directamente de la muestra hacia la fibra, para ello deben optimizarse las condiciones de extracción, y asegurar la máxima sensibilidad del analito por la fibra y la eficiencia de la extracción. A continuación se presentan los puntos de optimización comunes para la extracción.

#### **a) Selección del modo de extracción.**

La selección del modo de extracción debe hacerse considerando la complejidad de la muestra, la volatilidad de los analitos y la afinidad de éstos por la fase de la fibra. Por lo anterior tenemos que la SPME/DE, generalmente se utiliza para analitos de media a baja volatilidad y las muestras deben ser líquidos simples, para la SPME/HS se pueden manejar líquidos complejos y sólidos, pero los analitos deben ser de alta a media volatilidad, mientras que la SPME/MP se utiliza para muestras complejas y con analitos de baja volatilidad<sup>(62)</sup>.

#### **b) Selección de la fibra.**

Como ya se mencionó, existen diferentes tipos de fibras y la afinidad del analito por la fibra depende de las interacciones moleculares entre el analito y las distintas fases poliméricas que recubren las fibras, además debe considerarse el espesor de la fase polimérica, y por tanto la selección depende de los analitos a extraer<sup>(61)</sup>.

#### **c) Selección de la técnica de agitación.**

La agitación se utiliza para acelerar la transferencia de analitos desde la matriz de la muestra hacia la fibra. Su uso generalmente tiene un efecto positivo sobre la extracción, acortando su tiempo, pero para ello se debe considerar el tipo de agitación (magnética, ultrasónica, etc.) dependiendo de la matriz de la muestra y el modo de extracción a usar; por ejemplo, la sonicación es una agitación reproducible, pero calienta a la muestra. Por lo regular en MEFS se usan aparatos especiales para realizar una agitación uniforme y constante durante la extracción, debida a que una agitación no uniforme conlleva el decrecimiento del equilibrio causando baja reproducibilidad. La agitación es crucial si se usa el método de Inmersión Directa y también se puede usar en Headspace.

#### **d) Optimización del tiempo de extracción.**

El tiempo de extracción está determinado principalmente por la velocidad de agitación y el coeficiente de partición del analito entre la fase polimérica de la fibra y la matriz de la muestra<sup>(63)</sup>. Generalmente es corto para extracciones en SPME/HS. Para extraer la máxima cantidad de analito, el tiempo de equilibrio debe ser alcanzado, pero este puede ser demasiado para algunos analitos. El tiempo de extracción debe ser constante durante el análisis, es decir debe mantenerse controlado con la finalidad de obtener resultados repetitivos.

#### **e) Determinación de la temperatura de extracción.**

Generalmente, con pequeños incrementos de la temperatura de la muestra es posible acortar el tiempo de extracción, debido a que la temperatura produce un efecto sobre la constante de distribución que a su vez también depende de la concentración de los analitos en ambas fases, sin embargo, también se puede modificar el coeficiente de partición en la fibra y consecuentemente disminuir la cantidad de compuesto extraído, por lo que el uso de la temperatura tiene limitantes. El incremento de la temperatura se puede hacer en los tres modos de trabajo de la MEFS, dependiendo del tipo de matriz y de los analitos, por ejemplo para compuestos

semivolátiles como los plaguicidas, por lo general se manejan intervalos de 25-80°C ya que a temperaturas más altas se puede vaporizar el disolvente de la muestra saturando a la fibra.

**f) Optimización del pH.**

El pH de la muestra es importante para compuestos o analitos que presenten propiedades ácido-base, por lo que se puede modificar el equilibrio de disociación de los analitos en medio acuoso. Es por ello que el ajuste del pH mediante la adición de un buffer puede mejorar la sensibilidad de la extracción, pero también puede causar daño a la fibra, por lo que hay que balancear el uso de este parámetro para mejorar la extracción.

**g) Efecto de la adición de una sal.**

La adición de sales en la muestra aumenta el coeficiente de distribución de los analitos no ionizados por lo que la cantidad de analito extraído aumenta; sin embargo, para analitos ionizados se observa una disminución de la eficiencia de la extracción.

**h) Optimización de la desorción térmica.**

La temperatura y tiempo de desorción, la posición de la fibra en el inyector del Cromatógrafo de Gases, así como el flujo del gas son factores que afectan la desorción completa de los analitos adsorbidos.

**i) Limpieza de la fibra.**

El primer paso para la MEFS es asegurarse de que la fibra está limpia, generalmente se realiza desorbiendola térmicamente en el inyector del cromatógrafo (demostrandoló con una corrida en blanco), si es nueva la fibra, durante la corrida pueden aparecer señales debido al sangrado del polímero que la recubre o si ya se ha usado extractos residuales que habrá que eliminar antes de realizar una nueva extracción. La limpieza de la fibra se puede llevar a cabo por uno o dos métodos. En el primero se calienta la fibra en el inyector, la temperatura y el tiempo dependen de las especificaciones del proveedor. La segunda alternativa es la inmersión directa de la fibra en una mezcla de algún solvente miscible con agua (no usar solventes clorados) durante determinado tiempo (según el proveedor) para después desorberla térmicamente, el proceso de limpieza se realiza hasta asegurar un blanco reproducible y en caso de no eliminarse identificar plenamente las señales.

Entre las ventajas que presenta la MEFS sobre las técnicas de extracción mencionadas anteriormente como ELL o EFS, está el nulo uso de disolventes, lo cual minimiza el costo de disolventes de alta pureza y la eliminación de éstos, es fácil y rápida de usar, además de que se emplean volúmenes de muestra pequeños<sup>(64)</sup>.

Como ya se mencionó anteriormente la MEFS se trabaja en dos etapas:

1. La primera de extracción y pre-concentración de los analitos por medio de una fibra de sílica impregnada generalmente de una fase estacionaria polimérica que es expuesta a la muestra.
2. En la segunda etapa, la fibra con el analito adsorbido es transferida al instrumento (normalmente un cromatógrafo de gases) para su desorción térmica.

En la figura 22 se muestra el diagrama del método general para trabajar la extracción por MEFS.

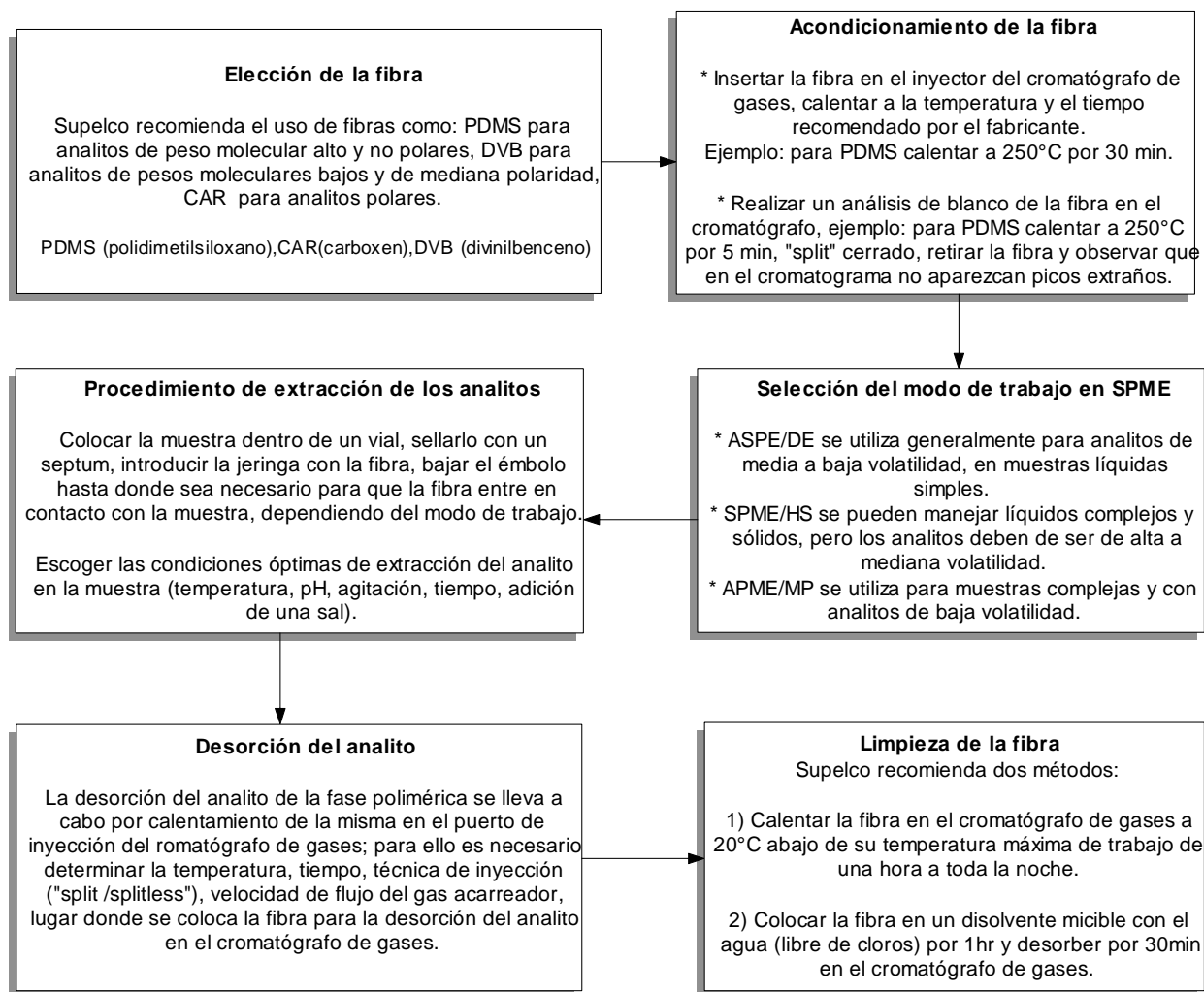


Figura 22.- Método general de la MEFS<sup>(59)</sup>

La MEFS hasta el momento no se ha convertido en la técnica preferida por los métodos oficiales o estándar para el análisis de plaguicidas en agua ya que todavía debe vencer algunos problemas en cuanto a su precisión y costo, sin embargo la MEFS tiene muchos reportes de aplicación en métodos publicados en revistas científicas para el análisis de una gran variedad de compuestos en diversas matrices, por lo que la técnica por si sola es una área de investigación que está en boga dada la gran cantidad de ventajas que presenta, lo que con el tiempo deberá llevar probablemente a su aplicación en métodos oficiales o estándar una vez que disminuyan los problemas mencionados anteriormente.

### V.3.3.- Metodologías que aplican la MEFS para plaguicidas organoclorados en agua.

Sin lugar a dudas se reportan artículos que utilizan para el análisis de trazas de plaguicidas organoclorados a la MEFS, por ejemplo: Derouiche<sup>(65)</sup> analiza 20 plaguicidas organoclorados (OPC's) y 20 bifenilos policlorados (PCB's), y para la elección de la fibra hace un estudio de la capacidad de adsorción de dos de ellas: PDMS (7, 30, 100  $\mu\text{m}$ ) y PDMS-DVB (65  $\mu\text{m}$ ), el acondicionamiento de la fibra se realizó a 260°C de 5-10 min de acuerdo a la recomendación de la compañía Supelco. Sus resultados mostraron que la fibra de PDMS de 100  $\mu\text{m}$  presentó mayor eficiencia para analizar ambas familias de compuestos. También realiza un estudio de la influencia de los diferentes parámetros sobre la extracción en un detector de captura de electrones; encontró que la temperatura óptima en la muestra fue de 80°C, que la extracción aumentó con agitación magnética, con un tiempo óptimo de 60min y finalmente que la adición de sal no era recomendable. El estudio de los parámetros los llevo a cabo en una muestra de 2 mL de agua desionizada cuya concentración era de 0.2ng/mL de cada PCB y 0.1ng/mL de cada OPC, contenida en un vial de 4 ml, con el método de "Headspace" y también lo aplicó en muestras de agua de río (que no presentaban concentraciones detectables de los compuestos en estudio) a las cuales adicionó 0.1ng/mL de cada estándar de PCB y OPC. Para la identificación de los compuestos en estudio uso un espectrómetro de masas de trampa de iones (ITMS-MS, por sus siglas en inglés). El método que desarrolló de SPME/HS/GC/ITMS-MS da un rendimiento en términos de precisión (C.V.) entre 5 a 21%, una linealidad de 0.001-1ng/mL y un límite de detección de 0.04 a 26 pg/mL.

Por otro lado Jorge Luiz Raposo<sup>(66)</sup> analiza 18 plaguicidas organoclorados en agua subterránea por MEFS usando el método de inmersión directa (DE) acoplada a CG-DCE, el método fue optimizado y validado para el análisis cuantitativo de los plaguicidas. Para ello usó la fibra de 50/30/20 de DVB/CAR/PDMS (de Supelco) y seleccionó las siguientes condiciones óptimas: tiempo de extracción de 45min, 120s de tiempo de splitless, sin adición de sal, con 60% de la máxima capacidad de agitación de la barra magnética, no específica la temperatura. El método que desarrolló de SPME/DE/GC/ECD da una buena linealidad a concentraciones debajo de 10 ng/L con un intervalo de  $r^2$  de 0.955 a 0.997 y límite de cuantificación de  $4.5 \times 10^{-3}$  a 1.5 ng/L.

Así podríamos seguir mencionando más artículos que analizan plaguicidas organoclorados, en la tabla XV se muestra una lista de varias publicaciones en revistas científicas que usan a la MEFS y observamos que no existe un método estandarizado oficial que use la técnica de MEFS para la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras de agua.



<b>ANALITO</b>	<b>MUESTRA/FIBRA</b>	<b>MODO DE EXTRACCIÓN</b>	<b>DETECCIÓN</b>	<b>REFERENCIA</b>
Plaguicidas Organoclorados	Agua/PDMS	SPME/HS	CG/DCE CG/TIEM-EM	Abdelkader Derouiche (2006) <sup>(65)</sup>
Plaguicidas	Agua/PDMS-DVB	SPME/DE	CG/DCE CG/DNF	E. Beceiro González (2006) <sup>(11)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua/PDMS	SPME/HS	CG/DCE	Nuno Rotola (2006) <sup>(67)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua subterránea/ DVB-CAR-PDMS	SPME/DE	CG/DCE	Jorge Luis Raposo Júnior (2007) <sup>(66)</sup>
Plaguicidas organoclorados	Agua de lago/ PMPVS/OH-TSO*	SPME/HS	CG/DCE	Chunzhou Dong (2005) <sup>(68)</sup>
Compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles	Agua/PDMS	SPME/HS	CG/DIF CG/EM	Beltran (2000) <sup>(69)</sup>
Plaguicidas	Agua de lluvia /PDMS	SPME/DE	CG/TIEM-EM	Anne Scheyer (2006) <sup>(70)</sup>
Compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles	Nieve/PDMS	SPME/DE y SPME/HS	CG/EM	Gregor Kos (2006) <sup>(71)</sup>

\* PMPVS/OH-TSO. Poli(metilphenilvinilsiloxano) hidroxí-aceite de silicona terminal<sup>(68)</sup>

Tabla XV.- Aplicaciones de la microextracción en fase sólida para la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras de agua

#### V.4.- Extracción por adsorción con barra magnética (EABM por sus siglas)<sup>(72, 73, 74, 75)</sup>

A partir del último decenio del siglo pasado, en las técnicas de extracción se ha dado la tendencia hacia la miniaturización y eliminar de ser posible el uso de disolventes para lograr esto se ha buscado aplicar técnicas basadas en el fenómeno de adsorción, como se ha planteado en las 2 técnicas explicadas anteriormente (EFS y MEFS). En el año de 1999 fue desarrollada por Baltussen<sup>(75)</sup> una nueva técnica de extracción para el análisis de compuestos orgánicos denominada Extracción por Adsorción con Barra Magnética (Stir Bar Sorptive Extraction o SBSE, por su nombre y siglas en inglés), también conocido con el nombre de “twister”.

##### V.4.1.- Fundamento de la técnica.

La EABM se basa en los equilibrios de reparto de los analitos entre la muestra y una fase adsorbente de polidimetilsiloxano (PDMS). El transporte de los analitos desde la matriz hasta el adsorbente inicia desde que éste entra en contacto con la muestra y termina cuando la concentración de analito ha alcanzado el equilibrio de distribución entre el PDMS y la muestra. El dispositivo se vale de una pequeña barra magnética dentro de un recinto de vidrio cubierta del polímero adsorbente, de 50 a 300  $\mu\text{L}$  de PDMS, que es comercializada con el nombre de “Twister” (Gerstel GmbH, Alemania)<sup>(75)</sup>. Al parecer su aplicación es muy sencilla, pues basta con introducir la barrita en la matriz acuosa que se desee analizar, se pone a agitar para que los compuestos sean retenidos por el adsorbente, después de un tiempo de agitación-extracción la barra magnética se retira de la muestra, se enjuaga con agua destilada y seca con un paño libre de hilos, posteriormente se inserta en el sistema de desorción térmica (SDT) (Thermal Desorption System o TDS por su nombre y siglas en inglés), para su desorción el cual está acoplado en línea a un cromatógrafo de gases para determinar a los compuestos de interés, figura 23.

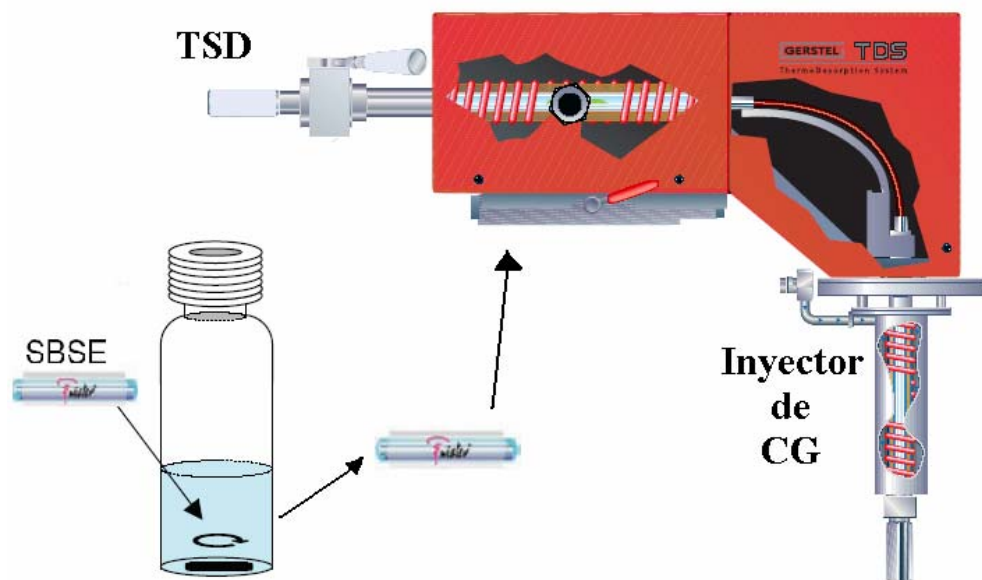


Figura 23.- Esquema del dispositivo para la extracción por EABM y su desorción con un equipo TDS de Gerstel<sup>(75)</sup>

Diferentes autores señalan que la EABM permite altos recobros y límites de detección a niveles de ultra-trazas (ppb y ppt), particularmente para solutos que presentan características hidrofóbicas altas en muestras acuosas.

#### **V.4.2.- Optimización del proceso de EABM.**

Debido a que en la EABM los analitos son extraídos directamente de la muestra hacia el adsorbente, es necesario optimizar las condiciones de extracción para asegurar la máxima sensibilidad de análisis del analito por el adsorbente y la eficiencia de la extracción. A continuación se presentan los puntos de optimización comunes para la extracción.

##### **a) Selección del espesor del adsorbente.**

Existen diferentes espesores del adsorbente de 50-300  $\mu\text{L}$  que recubren la barra magnética, su selección depende del analito a extraer, del volumen de la muestra y por supuesto de la concentración esperada del mismo.

##### **b) Selección de la técnica de agitación.**

La agitación se utiliza para acelerar la transferencia de analitos desde la matriz de la muestra hacia el adsorbente, una agitación incontrolable puede causar baja reproducibilidad en este tiempo de equilibrio.

##### **c) Determinación de la temperatura de extracción.**

Generalmente, con pequeños incrementos de la temperatura de la muestra es posible acortar el tiempo de extracción, debido a que la temperatura produce un efecto sobre la constante de distribución que a su vez también depende de la concentración de los analitos en ambas fases, sin embargo también se puede modificar el coeficiente de partición en la fibra y consecuentemente disminuir la cantidad de compuesto extraído, por lo que el uso de la temperatura tiene limitantes. El incremento de la temperatura se puede hacer en los tres modos de trabajo de la MEFS, dependiendo del tipo de matriz y de los analitos, por ejemplo para compuestos semivolátiles como los plaguicidas, por lo general se manejan intervalos de 25-80°C ya que a temperaturas más altas se puede vaporizar el disolvente de la muestra saturando a la fibra.

##### **d) Optimización del pH.**

El pH de la muestra es importante para compuestos o analitos que presenten propiedades ácido-base, por lo que se puede modificar el equilibrio de disociación de los analitos en medio acuoso. Es por ello que el ajuste del pH mediante la adición de un buffer puede mejorar la sensibilidad de la extracción, pero también puede causar daño al adsorbente, por lo que hay que balancear el uso de este parámetro para mejorar la extracción.

##### **e) Efecto de la adición de una sal.**

La adición de sales en la muestra aumenta el coeficiente de distribución de los analitos no polares (20-30% de NaCl) por lo que la cantidad de analito extraído aumenta; sin embargo, para analitos de mediana a alta polaridad se observa una disminución de la eficiencia de la extracción. El agregar sal usando una sola barra resulta en una disminución en la extracción de compuestos hidrofóbicos si es que se quiere extraer compuestos de variada polaridad, una forma de solucionar esta situación es el uso de dos barras una con adición de sal y otra sin ella.

##### **f) Optimización del tiempo de extracción.**

El tiempo de extracción está determinado principalmente por la velocidad de agitación y el coeficiente de partición del analito entre el adsorbente y la matriz de la muestra. Para extraer la máxima cantidad de analito, el tiempo de equilibrio debe ser alcanzado, pero este puede ser demasiado para algunos analitos. El tiempo de extracción debe ser constante durante el análisis, es decir debe mantenerse controlado con la finalidad de obtener resultados repetitivos.

**g) Optimización de la desorción de la barra magnética.**

La temperatura, tiempo de desorción y el flujo del gas acarreador en el equipo TDS son factores que se optimizan para obtener una desorción completa de los analitos adsorbidos.

**V.4.3.- Metodologías que aplican la EABM para plaguicidas organoclorados en agua.**

Se ha usado la EABM para el muestreo de trazas de plaguicidas organoclorados, por ejemplo en la tabla XVI se muestra una lista de varios artículos publicados en revistas científicas que usan a la SBSE para la extracción de plaguicidas organoclorados en agua, con la selección de condiciones para optimizar la extracción.

<b>ANALITO</b>	<b>ADSORBENTE</b>	<b>SISTEMA DE DESORCIÓN/ DETECCIÓN</b>	<b>REFERENCIA</b>
Plaguicidas organoclorados y organofosforados	Una barra PPESK* de 250µL	SDT/CG-DCE	Wenna Guan (2007) <sup>(76)</sup>
Compuestos orgánicos contaminantes	Dos barras de PDMS de 24µL	UDT/CG-EM	Nobuo Ochiai (2008) <sup>(77)</sup>
PCB's y OPC's	Una barra de PDMS de 20 X 0.5 mm	SDT-2/ CG-EM	Erkuden Pérez Carrera (2007) <sup>(78)</sup>
Compuestos Semivolátiles	Una barra de PDMS de 20 X 0.5 mm	SDT-2/ CG-EM	V. M León (2003) <sup>(79)</sup>

\*PPESK: Poli cetona éter sulfona de ftalacina

Tabla XVI.- Aplicaciones de la EABM para la determinación de plaguicidas organoclorados en muestras de agua

## VI.- TÉCNICA DE DETERMINACIÓN<sup>(80)</sup>

El procedimiento analítico cuantitativo más común para la determinación de plaguicidas lo constituye el empleo de las técnicas instrumentales cromatográficas, debido a que se aprovechan las propiedades de los plaguicidas como su semivolatilidad o volatilidad. Además de que las técnicas de preparación de la muestra son selectivas en atrapar a los plaguicidas pero no específicos por lo que se requiere de una excelente técnica de separación también. Estas técnicas ofrecen múltiples ventajas ya que algunas veces se requiere la identificación y cuantificación de los analitos en cantidades del orden de las trazas, en una gran variedad de matrices y los detectores manejados en estas técnicas instrumentales permiten esto.

### VI.1.- Cromatografía

La cromatografía se define como una técnica física (o fisicoquímica) que permite separar, identificar y cuantificar los componentes de una mezcla de compuestos químicos, basada en la distribución de los analitos de la muestra entre dos fases, denominadas fase móvil y fase estacionaria. Donde la fase móvil es un fluido (líquido, gas o fluido supercrítico) y la fase estacionaria es un sólido o líquido.

Una de las clasificaciones para las técnicas cromatográficas es considerando primero el tipo de fase móvil que se utiliza, posteriormente el tipo de fase estacionaria que se aplique, como se observa en la figura 24.

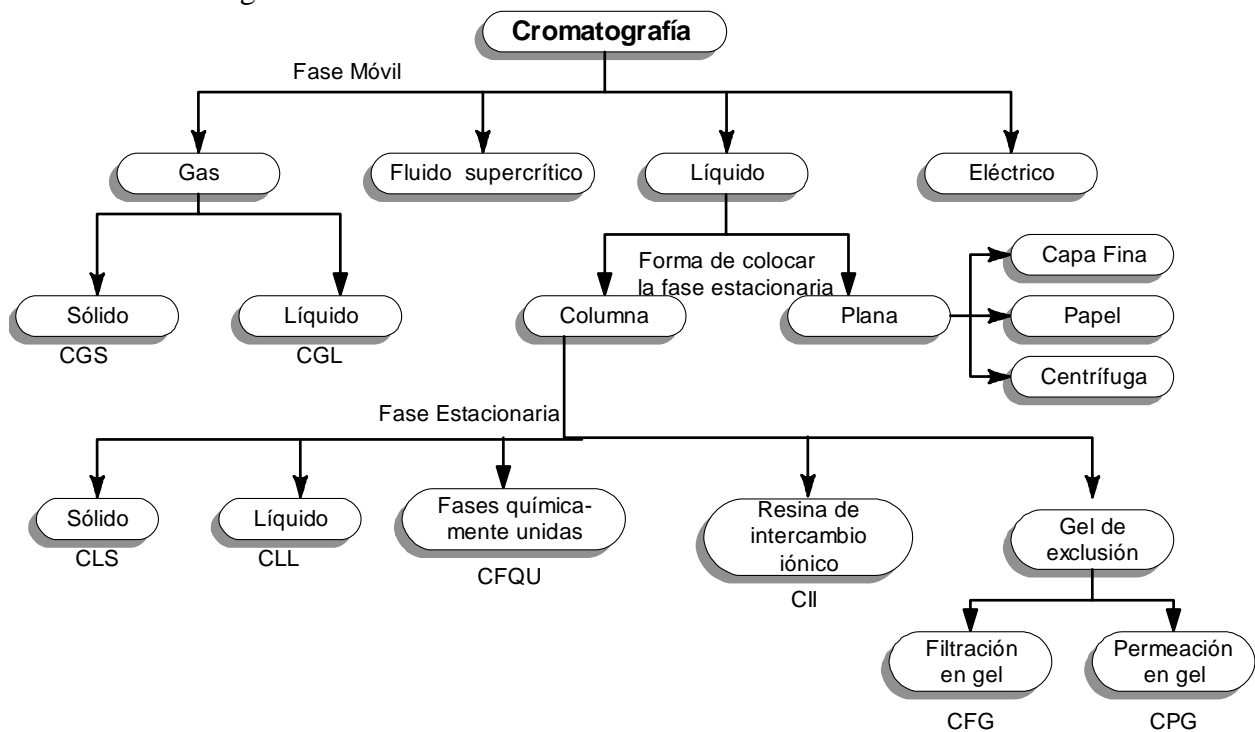


Figura 24.- Clasificación de la cromatografía

En el análisis de plaguicidas, la técnica más utilizada es la cromatografía de gases debido a la alta capacidad de separación de analitos que presenta este sistema, ello permite que sea posible la identificación y cuantificación de los mismos por medio del uso de detectores

altamente sensibles, de tal forma que asegura la calidad de los análisis para evaluar los resultados estadísticamente, es por ello que se dará una explicación de esta técnica.

## VI.2.- Cromatografía de gases<sup>(41, 81,82,83)</sup>

Una característica importante de la cromatografía de gases para el análisis de plaguicidas es que permite analizar más de uno de ellos en todo tipo de matrices; hoy en día existen aproximadamente 500 compuestos registrados como plaguicidas (incluyendo a sus metabolitos) de los cuales 300 de ellos se pueden analizar por esta técnica, lo que provoca que sea una de las técnicas más usadas para el análisis de trazas de plaguicidas. En los últimos años se han desarrollado y además logrado acoplar al cromatógrafo de gases varias de las técnicas nuevas de preparación de muestra mencionados en este capítulo en el punto V, tanto para la extracción de muestras sólidas y líquidas, lo que la hace además la técnica más empleada con respecto a otras que pudieran existir, en la figura 25 se muestra una perspectiva de la técnicas de extracción explicadas en este trabajo para el análisis de plaguicidas en matrices acuosas acopladas a la cromatografía de gases.

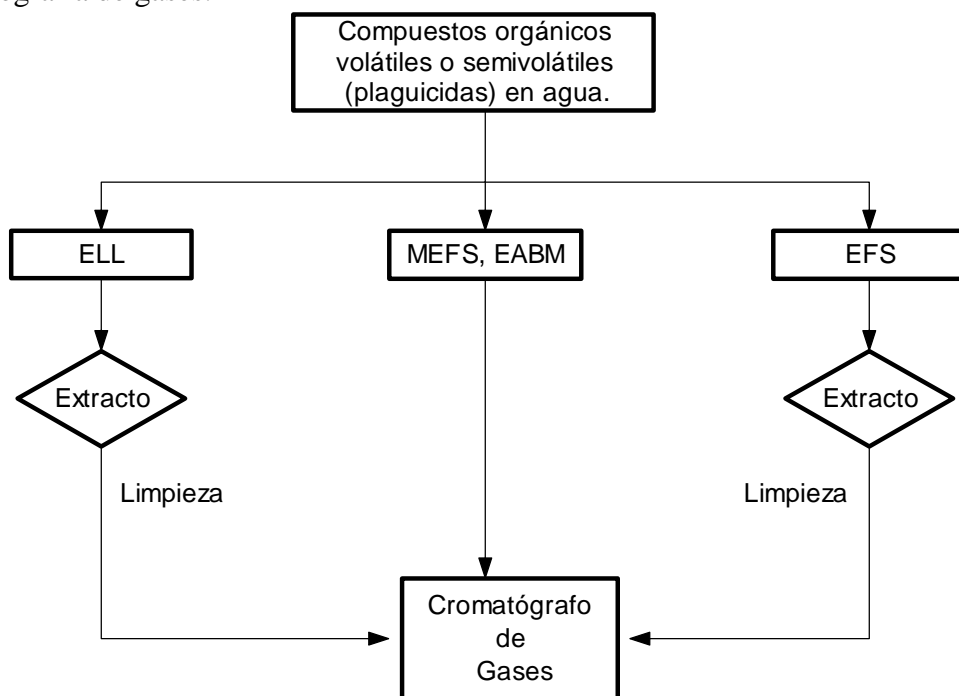


Figura 25.- Técnicas de extracción acopladas a un cromatógrafo de gases en el análisis de agua

### A).- Fundamento teórico

El proceso cromatográfico se realiza en un sistema cerrado conocido como columna analítica o de separación en el cual se encuentra contenida la fase estacionaria. A través de ésta fluye la fase móvil de un gas inerte estableciendo contacto con la fase estacionaria, que puede ser un sólido o líquido (este último de alto punto de ebullición); al introducir la muestra al sistema, los solutos se reparten entre ambas fases separándose éstos debido a sus diferentes constantes de reparto, donde los solutos más afines a la fase estacionaria se retienen más en ésta y tardan más en eluir, mientras que los solutos menos afines eluyen más rápido. La separación de los componentes de la muestra se puede agilizar mediante la manipulación de dicha constante, lo anterior se puede lograr por la misma definición de la constante, es decir cambiando la fase estacionaria o la fase móvil, además por los principios fisicoquímicos que pueden modificar a las

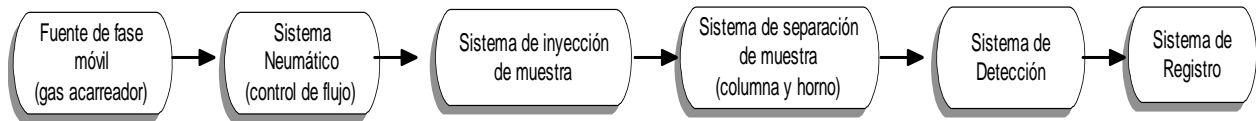
constantes como la temperatura (la variación de presión no se aplica) que es de gran aplicación en la técnica.

$$K_{eq} = \frac{[\text{analito}]_{\text{fase estacionaria}}}{[\text{analito}]_{\text{fase móvil}}} = e^{\frac{-\Delta G}{RT}}$$

Como ya se mencionó en la clasificación de la cromatografía existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía *gas-sólido* y la cromatografía *gas-líquido*. En la cromatografía de *gas-sólido* la fase estacionaria la constituyen adsorbentes tales como carbón vegetal, tamices moleculares (zeolitas sintéticas) y polímeros sólidos. La cromatografía de *gas-líquido* utiliza como fase estacionaria líquidos orgánicos (polímeros) de alto punto de ebullición, la cual se extiende como una película delgada sobre un soporte sólido.

### **B).- Instrumentación**

El diseño instrumental de un cromatógrafo de gases se puede describir en bloques como lo muestra el siguiente esquema:



#### **a) Fuente de fase móvil.**

Se utilizan los gases He, N<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> que se tienen en tanques de alta presión utilizando para el control de estos tanques los manómetros de alta presión o de doble paso o de membrana. Su propósito primario es el transportar a los componentes volátiles de la muestra a través del sistema cromatográfico (por lo que normalmente se le conoce como gas acarreador) y el secundario es obtener una matriz adecuada para que el detector mida el componente de la muestra.

El uso de estos gases por ser los más pequeños que se conocen permiten la menor resistencia a la transferencia de masa de los analitos lo que permite optimizar la eficiencia del sistema cromatográfico.

Otras características que deben presentar los gases para ser usados en CG es que sean de baja viscosidad, con alta pureza (por lo menos con 99.99%), no tóxicos, no peligrosos y fácilmente accesibles. La elección del gas portador depende del tipo de columna que se utilice (empacada o capilar) y adecuado con el detector empleado por el sistema cromatográfico.

#### **b) Sistema neumático.**

Su objetivo es controlar el caudal o flujo del gas acarreador, así como del gas requerido para el detector y gases auxiliares, este sistema esta constituido por manómetros de presión y válvulas de paso.

#### **c) Sistema de inyección de muestra.**

Consta de jeringas, más una cámara de vaporización llamada inyector que se encuentra en el equipo. Las jeringas pueden ser para manejar muestras líquidas o gaseosas. El inyector está constituido por un sello de goma de silicón autosellable (“septum”) ubicado en la cabeza del inyector, un alimentador de vidrio llamado “inserto” contenido en un bloque metálico capaz de

calentarse. Dentro del inserto la muestra es inyectada, vaporizada y barrida por el gas acarreador hacia la columna.

Si la columna utilizada es de tipo capilar, existen tres modos de inyección que pueden ser empleadas: “Split”, “Splitless” y “On-column” (por sus nombres en inglés).

- ▲ En el modo de “split” la muestra inyectada se divide entrando una parte a la columna y la otra se va por una salida conocida como flujo de “split”, para controlar la cantidad de muestra que podemos inyectar se maneja la relación de “split” que es el cociente de la relación del flujo de “Split” entre el flujo de columna, así una relación de “split” 1:100 indica una inyección del 1% de lo que se inyecta (se utiliza en el caso de muestras con muestras concentradas) y una de 1:10 indica una inyección del 10% (para el caso de muestras menos concentradas).
- ▲ En el modo de “splitless” una vez inyectada la muestra, deja de introducirse flujo de gas acarreador a la cabeza del inyector (purga cerrada) por un cierto tiempo, permitiendo que la muestra se mueva en el inyector de manera libre, lo anterior deja que los compuestos que forman la muestra se separen entre ellos por su tamaño y volatilidad, por lo que se obtiene por lo menos una separación en el bolo inyectado de los analitos con respecto al disolvente y éstos se concentran, después de pasar el tiempo de mantener la purga cerrada se vuelve a introducir gas acarreador a la cabeza del inyector (purga abierta) entrando a la columna capilar.
- ▲ En el modo “on-column” la aguja de la jeringa que se utiliza para la inyección es un tubo de columna capilar cuyo diámetro externo es más pequeño que el diámetro interno de la columna analítica usada, por lo que la muestra se inyecta de manera directa hacia la columna, el inyector en el instrumento es en sí una guía para la jeringa. A pesar de parecer ser la mejor técnica de inyección hay que cuidar que la disolución que se inyecte este muy limpia de partículas o de compuestos que se descompongan y tapen la columna.

#### **d) Sistema de separación.**

Está constituido por dos partes: un horno y la columna analítica.

##### **-“Horno”**

La función del horno es calentar a la columna para variar su temperatura y esto permita variar las constantes de equilibrio que presentan los compuestos que forman a la muestra y se logre una mejor separación. El horno debe tener características que admita el enfriamiento y calentamiento rápido de la columna y una temperatura reproducible en todo el horno, entre otras. El sistema de calentamiento debe permitir trabajar con los modos isotérmico o programa de temperatura.

- ◆ En el modo isotérmico, durante el análisis de la muestra en el cromatógrafo de gases se mantiene constante la temperatura en el horno, normalmente se usa cuando los compuestos que constituyen a la muestra son muy semejantes en sus propiedades físicas y químicas.
- ◆ En el modo de programa de temperatura se varía la temperatura con respecto al tiempo en el horno durante el análisis de la muestra (siempre de baja a alta), se aplica cuando los compuestos que constituyen la muestra tienen una gran variación en sus propiedades físicas y químicas.



### -“Columna analítica”

Actualmente se usan dos tipos de columnas: las empacadas y las capilares o tubulares abiertas, estas últimas de amplio y mayor uso en los últimos 30 años.

\***Las columnas empacadas o rellenas** se construyen con tubería de acero inoxidable o vidrio; los diámetros internos de éstas van de 1.6 a 9.5 mm y pueden tener longitudes de 2-6 m, aunque la de uso común es la de 2 m. Esta tubería es rellena o empacada por la fase estacionaria, en el caso de que la fase estacionaria sea para cromatografía gas-sólido el empaque es la misma fase estacionaria, es decir un sólido adsorbente como el Porapak, Carbopak, Chromosorb 101, etc. En el caso de que se trabaje la cromatografía gas-líquido el empaque está constituido por la fase estacionaria depositada en un material sólido llamado soporte, en este caso se utilizan fases estacionarias líquidas como el Carbowax 20M, OV-101, SE-54, etc.. Las fases estacionarias para los dos casos mencionados son en general polímeros (ya sean plásticos o sílices).

\***Las columnas capilares** se construyen normalmente en tuberías de sílica fundida (también en vidrio) la cual se recubre en su parte externa con un polímero llamado poliamida y éstas tienen diámetros internos entre 0.1 a 0.53 mm normalmente. En estas columnas la fase estacionaria recubre la pared interior de la tubería con un intervalo de grosor de 0.1 a 25  $\mu\text{m}$ , por lo que este tipo de columnas tienen una trayectoria abierta para el flujo y sin restricciones, lo cual disminuye la caída de presión del sistema. Las columnas capilares pueden tener los siguientes tres formatos dependiendo de la colocación de la fase estacionaria en la tubería, figura 26.

- ▲ Columnas tubulares abiertas impregnada en la pared (wall coated open tubular, WCOT por su nombre y siglas en inglés), aquí la fase estacionaria líquida recubre la pared interior directamente.
- ▲ Columnas tubulares abiertas con soporte impregnado (support coated open tubular, SCOT por su nombre y siglas en inglés), en este caso la fase estacionaria líquida se impregna sobre un soporte y luego esto recubre la pared interna de la columna.
- ▲ Columnas tubulares abiertas con capa porosa (porous layer open tubular, PLOT por su nombre y siglas en inglés), la fase estacionaria sólida recubre la pared interior directamente.

Las columnas capilares de tipo WCOT y SCOT se aplican para la cromatografía gas-líquido y las PLOT para cromatografía gas-sólido.

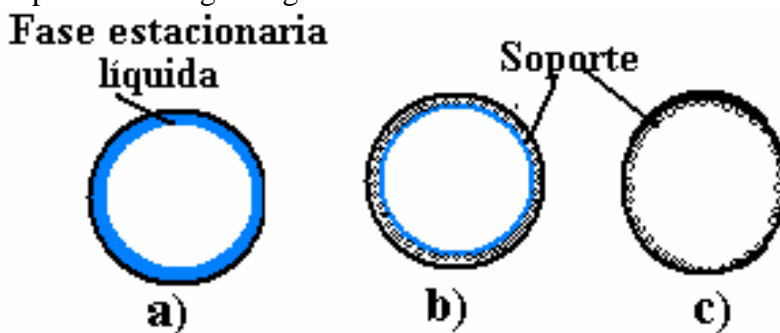


Figura 26.- Columnas capilares: a) WCOT, b) SCOT, c) PLOT

### e) **Sistema de detección.**

Es un dispositivo que debe generar un fenómeno físico mediante la medición de alguna propiedad del soluto o del eluyente y convirtiéndolo a alguna señal de tipo eléctrico realizando

esta medición de manera continua durante el paso del gas acarreador. Además la señal generada por éste deberá ser proporcional a la concentración del soluto.

Para la cromatografía de gases existen detectores propios del instrumento como los listados a continuación:

- ❖ Detector de conductividad térmica, DCT (TCD, por sus siglas en inglés).
- ❖ Detector de ionización de flama, DIF (FID, por sus siglas en inglés).
- ❖ Detector de captura de electrones, DCE (ECD, por sus siglas en inglés).
- ❖ Detector de nitrógeno / fósforo, DNF (NPD, por sus siglas en inglés).
- ❖ Detector fotométrico de flama, DFF (PFD, por sus siglas en inglés)
- ❖ Detector de conductividad electrolítica DCEL (ELCD, por sus siglas en inglés).
- ❖ Detector de fotoionización DFI (PID, por sus siglas en inglés).

Actualmente se tienen detectores acoplados que además permiten obtener espectros para una comprobación cualitativa, éstos son:

- ❖ Detector de absorción infrarroja.
- ❖ Detector de emisión atómica.
- ❖ Detector de espectrometría de masas DEM (MSD, por sus siglas en inglés).

Las características primarias son las más importantes que reúne un detector y que permiten descartar uno con respecto a otro de acuerdo a las necesidades del análisis. En los siguientes párrafos se definen y analizan las características primarias de forma general.

- ▲ La sensibilidad denota a la cantidad de señal generada para determinada concentración de una muestra, un detector sensible genera una señal eléctrica grande para determinada concentración de una muestra. También puede medirse como la pendiente de la gráfica de la respuesta del detector en función de la concentración de la muestra, la cantidad mínima detectable (CMD) en la curva (MDL por sus siglas en inglés) es aquella muestra lo suficientemente grande para generar una señal dos o tres veces más grande que el nivel de ruido. La MDL es afectada por la forma en que se colecta y prepara la muestra, también por la columna, así como la forma en que la señal se integra y el ruido fortuito del circuito eléctrico del sistema.
- ▲ La selectividad indica que compuestos producen una respuesta en el detector. Algunos detectores son considerados universales debido a que generan una respuesta para todos los componentes de una muestra exceptuando al gas acarreador por lo que no se consideran selectivos, y los considerados selectivos solo responden a un determinado tipo de componentes de la muestra; por ejemplo el detector fotométrico de flama sólo responde a compuestos que contienen azufre o fósforo en su estructura. En la tabla XVII se resumen la selectividad de algunos detectores de CG.
- ▲ El intervalo lineal es la región sobre la cual la señal del detector responde de manera proporcional a la concentración (normalmente lineal) de la muestra (por medio de estándares). Es muy importante que el intervalo lineal sea amplio para el análisis cuantitativo tanto de los compuestos con concentraciones altas presentes en la muestra como aquellos que se encuentran a niveles traza.

DETECTOR	LINEALIDAD	CMD	SELECTIVIDAD
DCT	$10^4$	$10^{-8}$ g	Universal, todos los componentes, excepto el gas portador.
DIF	$10^6$	$10^{-11}$ g	Selectivo para compuestos orgánicos, no da respuesta con: agua, aire, gases inertes, CO, CO <sub>2</sub> , CS <sub>2</sub> , NO, NO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S.
DCE	$10^3$	$10^{-9}$ g	Muy selectivo; solo responde a átomos muy electronegativos.
DNF	$10^4$	$10^{-11}$ g	Muy selectivo, solo responde a átomos de N, P y algunos halógenos.
DFF	$10^4$	$10^{-10}$ g para P $10^{-9}$ g para S	Muy selectivo; solo responde a átomos N y P.
DEM	varia	$10^{-12}$ g por "SCAN" $10^{-15}$ g por "SIM"	Universal, todos los componentes.

Tabla XVII.- Características de un detector<sup>(83)</sup>

**f) Sistema de registro.**

Es un dispositivo que tiene como función convertir la señal eléctrica a algo entendible y en el caso de la cromatografía es la representación en forma de una gráfica de la señal que genera los analitos en el detector con respecto al tiempo (en minutos), este gráfico se le conoce con el nombre de cromatograma, figura 27, y puede ser obtenido por medio de un integrador electrónico o una computadora con su programa respectivo. Del cromatograma las señales que aparecen se conocen como picos cromatográficos, de este gráfico se obtienen varios datos que permiten realizar tanto análisis cualitativos y cuantitativos de las señales (y por lo tanto compuestos) que interesen, así como otros parámetros de importancia cromatográfica.

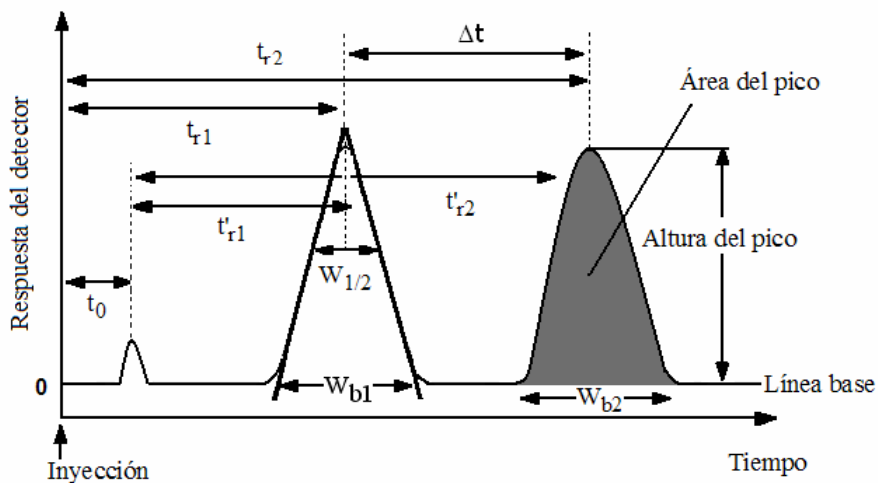


Figura 27.- Cromatograma e información obtenida de éste

### **C).- Análisis cualitativo**

Éste está basado en la medición de los tiempos de retención (tr) de los picos cromatográficos de los compuestos que eluyen en el sistema cromatográfico y que son obtenidos en el cromatograma. Lo anterior se hace comparando los tr de estándares de los compuestos que se espera analizar con los tr obtenidos de la muestra, inyectándose todos a las mismas condiciones cromatográficas.

Cuando hay dudas sobre esta comparación de los tr se pueden realizar metodologías como la adición de estándares a la muestra, comparación en 2 ó más fases estacionarias. En el caso de que aún aplicando estas opciones se tengan dudas entonces lo ideal es utilizar los detectores acoplados espectroscópicos.

### **D).- Análisis cuantitativo**

Éste está basado en la medición de las áreas o alturas de los picos cromatográficos dados por los compuestos que eluyen en el sistema cromatográfico. En cromatografía se pueden trabajar los siguientes métodos cuantitativos:

- ❖ Método de Normalización.
- ❖ Método de Normalización con Fr.
- ❖ Método de Estándar Externo.
- ❖ Método de Estándar Interno.
- ❖ Método de Adición Patrón.

## **VI.3.- Cromatografía de gases aplicada en el análisis de plaguicidas organoclorados en matrices acuosas**

Las tres partes del cromatógrafo de gases que necesitan ser optimizadas para garantizar resultados con buena precisión son: el sistema de inyección, de separación y detección.

Durante la revisión de los métodos se encontró que para el análisis de plaguicidas en muestras ambientales el sistema de introducción de muestra más utilizado es el modo de inyección “splitless”, aunque también se reporta el modo “on-column”, pero está condicionado para extractos limpios de otra manera se puede dañar la columna. En el modo “splitless” el extracto inyectado queda contenido en un inserto (donde se volatiliza el extracto) que sirve como contenedor y al mismo tiempo como trampa para compuestos no volátiles que pudiera traer consigo el extracto y de esta forma evitar la contaminación de la columna. También se encontró que la elevada temperatura en el inyector, puede dar como resultado la descomposición de los plaguicidas termolábiles, los cuales al descomponerse forman, cuando el extracto de la muestra contiene trazas de agua, ácidos como el HCl que activan la superficie del inserto eliminando la silanización de éste apoyado por la misma temperatura de los inyectores (arriba de 200°C), está misma activación provocará por ejemplo en la determinación de DDT, que los sitios activos del inserto produzcan la transformación del DDT a DDE y TDE. Lo anterior lleva a concluir que para el análisis de plaguicidas organoclorados hay que asegurar que el inserto se encuentre limpio e inerte (silanizado para evitar que sea activa su superficie). Un punto a notar es que algunos artículos reportan el uso de técnicas “acopladas” (Hyphenated, en inglés) de CG con técnicas de extracción e inyectarse de forma automática como: EFS, MEFS y EABM. Sin embargo los 2 últimos sólo se encuentran publicados en artículos, más no en métodos oficiales.

El corazón de la cromatografía de gases es la columna, por lo que la selección de la fase estacionaria, la dimensión de la columna, la velocidad del gas acarreador son algunos de los factores que determinan la separación de los compuestos. Para plaguicidas organoclorados se utilizan principalmente fases de tendencia no polar, por ejemplo columnas de 5%- fenil-95% -

dimetilpolisiloxano (AT-5, HP-5MS, DB-5MS, DB-5, SPB-5, nombre comercial), 35% fenil-65% dimetilpolisiloxano (SPB-35, AT-35, HP-35, nombre comercial) incluso se puede usar la de 50% fenil-50% dimetilpolisiloxano (DB-17, HP-50, OV-17, AT-50, nombre comercial)<sup>(82)</sup>, las dimensiones pueden ir desde 50-60 m de longitud x 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 µm de grosor de la película de la fase estacionaria, tabla XVIII. Debido a que los extractos de los plaguicidas pueden contener otros compuestos que interfieran en su análisis es que se recomienda usar las columnas de 50-60 m, algunas veces es necesario la confirmación del análisis mediante una segunda columna con diferente fase estacionaria (de preferencia de tendencia polar). Para el caso de plaguicidas organoclorados quirales se emplean fases estacionarias con ciclodextrina para la separación enantioselectivas de α-HCH, Clordanos, y DDT's. En todos los casos se aplica el modo de programa de temperatura para realizar el análisis.

En la última década se han hecho mejoras en el sistema de separación como la cromatografía multidimensional, que consiste en dos columnas conectadas, una más larga y otra más corta de diferentes fases, o la cromatografía rápida (Fast GC, por sus siglas en inglés) las cuales ya se aplican para el análisis de plaguicidas.

MÉTODO	8081 USEPA <sup>(17)</sup>		ASTM D5818-96 <sup>(85)</sup>	AOAC 990.06 <sup>(84)</sup>
Columna	Capilar de sílica enlazada con SE-54 (o DB-5)	Capilar de sílica enlazada con 35% de fenilmetilsiloxano (o DB-608, SPB-608)	Capilar con mezcla 1:1 de dimetilsilicona : polietilenglicol	Capilar de sílica enlazada con DB-5 o DB-1701
<b>CONDICIONES DE TRABAJO</b>				
Gas acarreador	Helio	Nitrógeno	Helio	Helio
Presión del gas acarreador	16 psi	20 psi	9 psi	15 psi
Temp. del inyector	225°C	225°C	200°C	250°C
Temp. del detector (ECD)	300°C	300°C	290°C	320°C
Programa de temperatura	100°C por 2 min.	160°C por 2 min.	100°C	60°C
	100°C – 160°C a 15°C/min. seguido por 160-270°C a 5°C/min.	160°C – 290°C a 5°C/min.	100°C – 210°C a 8°C/min. seguido por 210-240°C a 8°C/min.	60°C – 300°C a 4°C/min.
	270°C	290°C por 1 min.	240°C	300°C

Tabla XVIII.- Tipo de columnas usada por algunos métodos oficiales

El valor de la CG en el análisis de plaguicidas se encuentra en la disponibilidad de varios detectores con alta sensibilidad y selectividad, para determinarlos. El detector de captura de electrones es el más usado para la determinación de plaguicidas organoclorados en muchos

métodos oficiales, estandarizados o artículos publicados (tabla XIX), su éxito se debe a que es selectivo para compuestos halogenados, su bajo costo comparado con EM, su alta sensibilidad.

Por otro lado el acoplamiento de la CG con la EM ha dado como resultado una herramienta poderosísima para el análisis cualitativo de compuestos orgánicos (entre ellos los plaguicidas), con ella se realizan de forma más fácil los análisis que antes requerían más tiempo y más cantidad de muestra; se ha demostrado que con el acoplamiento de estos equipos los niveles de sensibilidad se incrementan notablemente (se disminuye la relación señal / ruido), es común registrar sustancias en el nivel de partes por billón (trazas) y con una certeza casi absoluta en la identificación, es por ello que su aplicación ya se tiene en métodos oficiales, estandarizados, etc. Se han desarrollado opciones de trabajo especiales dentro del instrumento que han permitido alcanzar niveles de detección sumamente bajos, como lo es la opción del “Monitoreo Selectivo de Iones” (SIM, por sus siglas en inglés), en esta opción en lugar de obtener espectros completos de los compuestos para su identificación, a través del ordenador se pide al EM que solo registre ciertos iones previamente seleccionados, estos iones deben ser característicos de un compuesto o grupo y con ello solo se obtiene el registro de él o los compuestos que generan dicha señal. Para la identificación existen bibliotecas de los espectros de muchos compuestos <sup>(86)</sup>. Para la calibración del EM se usa perfluoroterbutilamina (PFTBA) y en el sistema acoplado CG-EM una disolución de decafluorotriphenilfosfina (DFTPP, por sus siglas en inglés) en acetona o cloruro de metileno, si en el sistema CG-EM se va a analizar plaguicidas organoclorados a la disolución de DFTPP se le agrega Edrín y 4,4´-DDT para verificar que no haya sitios activos en el sistema <sup>(15)</sup>.

A continuación se presenta una tabla que lista los métodos estandarizados aprobados para la determinación de plaguicidas organoclorados en agua, tabla XIX; lo que confirma que es una de las técnicas instrumentales preferidas para el análisis cualitativo y cuantitativo de éstos.

<b>MÉTODO</b>	<b>TÉCNICA INSTRUMENTAL/ DETECTOR</b>	<b>ANALITO</b>	<b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO (ppm)</b>
USEPA 505 <sup>(30)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados	0.002-6.8
USEPA 508 <sup>(14)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados	0.0015-5
USEPA 608 <sup>(34)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados en agua residual municipal e industrial	0.0015-5
USEPA 515 <sup>(46)</sup>	CG/ DCE	Ácidos organoclorados	0.02-1.3
EN ISO 6468 <sup>(36)</sup>	CG/ DCE	Insecticidas organoclorados	0.001-0.01
USGSO -1104-83 <sup>(37)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados y organofosforados	0.01
ASTM 6630 <sup>(87)</sup>	CG/ DCE	Ácidos clorofenóxidos	0.003-0.24
ASTM 5175 <sup>(40)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados y bifenil-policlorados	Menor a 1
ASTM 5812 <sup>(39)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados	Menor a 1
AOAC 990.06 <sup>(85)</sup>	CG/ DCE	Plaguicidas organoclorados	0.0025-0.5
USEPA 525 <sup>(15)</sup>	CG/ DEM	Compuestos orgánicos	varia
USEPA 680 <sup>(88)</sup>	CG/ DEM	Plaguicidas y PCB's	varia
USEPA 1656 <sup>(89)</sup>	CG/ DEM	Plaguicidas organohalogenados	varia

Tabla XIX.- Ejemplos de métodos estandarizados que usan CG para la determinación de plaguicidas organoclorados

## VII.- EVALUACIÓN DE RESULTADOS E INFORME

Una vez, escogido el método a utilizar el siguiente paso es estimar la validación del método, el cual se define como la confirmación de que se han cumplido los requisitos para el uso de un método, mediante el suministro de evidencias. La validación examina los parámetros de desempeño de un método para identificar y establecer cualquier limitación que pueda esperarse del método, algunos de los parámetros que se evalúan normalmente en la analítica instrumental son: condiciones óptimas de trabajo, linealidad, precisión, reproducibilidad y repetibilidad del método, exactitud, cantidad mínima detectable, tolerancia del sistema, estabilidad de la muestra, robustez, etc. Debido a que la técnica más usada para la determinación de plaguicidas es la cromatografía de gases, por lo que en esta sección se habla de forma general sobre los parámetros que se evalúan en ella y de esta manera ejemplificar la validación del método.

Hay que indicar que la calidad de los resultados dependerá primero de que la técnica instrumental cumpla los requisitos de calibración marcados para la separación de los compuestos y de su sistema de detección, y una vez asegurado lo anterior se procede a asegurar mínimo las siguientes pruebas<sup>(90,91)</sup>.

### VII.1.- Condiciones óptimas del sistema

Su finalidad es seleccionar las condiciones óptimas de operación para el mejor desempeño del sistema de medición, por medio del análisis de una disolución que contenga a los compuestos de interés. Para cromatografía se calculan mínimo los siguientes parámetros:  $\alpha$  (selectividad) de cada analito cuyo valor debe ser  $>1$ , lo cual indica que los analitos presentan afinidad por la fase estacionaria, y con  $R_s$  (resolución)  $>1.5$  que indica que la separación del área de los picos se encuentra arriba de 99.73% y se puede cuantificar adecuadamente. Si no se llegan a cumplir éstos valores de  $\alpha$  y  $R_s$  es necesario replantear las condiciones de trabajo como: temperatura de separación, flujo de la fase móvil, columna analítica, entre otros.

### VII.2.- Linealidad del sistema

Para un cromatógrafo de gases la linealidad se realiza por medio de una curva de calibración (con mínimo 5 puntos) de los estándares de los analitos de interés, aplicando el método de estándar interno de preferencia. La concentración mínima del estándar debe ser 10 veces mayor al límite de detección y de preferencia que el centro de la curva corresponda a la concentración esperada de la muestra a analizar. Uno de los criterios de aceptación para la linealidad del sistema es observar que la gráfica presente tendencia lineal, la cual se puede confirmar con el valor de correlación de la regresión lineal, aplicada a los datos de la curva patrón, con un  $r \geq 0.98$ . Si cumple con la linealidad y al parecer tiende al origen, se puede establecer una prueba de hipótesis a la ordenada al origen, para comprobar si los resultados se ajustan a una línea recta con ordenada al origen 0, basadas en la ecuación para el método de estándar interno, así como también se puede establecer el intervalo de confianza en que se encuentra el valor de la ordenada.

$$\frac{A_M}{A_{EI}} = F_{RR} \times \frac{C_M}{C_{EI}}$$

En caso de no presentar tendencia al origen a cero, en lugar de utilizar la ecuación anterior se usa la ecuación  $y = m x + b$  para cuantificar.

Una de las formas de buscar la linealidad del sistema de CG es por el método de estándar interno, el cual se realiza por medio de una curva con un mínimo de 3 puntos (recomendable 5



puntos) con los estándares a diferentes concentraciones de cada compuesto organoclorado (M) de interés; uno debe ser ligeramente mayor al límite de detección estimado y los otros a una concentración que este en el intervalo del resultado esperado para los analitos de la muestra, también hay que considerar el intervalo de trabajo del detector. A cada muestra se le agrega una cantidad igual de estándar interno (E.I.), se recomienda el penta cloro-nitro-benceno (PCNB, por sus siglas en inglés) para organoclorados y se lleva al aforo con metil-terbutil-éter (MTBE, por sus siglas en inglés)<sup>(14)</sup>. Se grafica la relación de áreas (área M/área E.I) versus concentraciones (concentración M/concentración E.I), para obtener una curva de calibración cuya pendiente es el Frr (factor de respuesta relativo), el cual se podrá utilizar para hacer los cálculos pertinentes siempre y cuando su coeficiente de variación sea menor al 20%<sup>(14)</sup>. Durante el día de análisis se debe verificar el Frr con uno de los estándares y si el valor de la concentración predicha para el estándar varía de  $\pm 20\%$  se procede a una nueva calibración del instrumento.

Otra forma de cuantificación es por estándar externo, el cual se basa en realizar una curva del estándar del plaguicida de interés a diferentes concentraciones, se grafica área vs concentración, donde la pendiente es el factor de respuesta (Fr) y se hacen las mismas consideraciones para la pendiente que en el caso planteado en la metodología del E.I.

### **VII.3.- Precisión del sistema**

Ésta se define como el grado de concordancia de los resultados de las diferentes mediciones de una misma propiedad. Para ello a partir de una disolución madre (del analito de interés) se preparan mínimo 7 disoluciones de la misma concentración y se determinan por triplicado cada una de ellas; los resultados de este ensayo no deben diferir en más del 2% de la desviación estándar relativa ( $s$ ) para órdenes de concentración altas y no más del 5% para concentraciones trazas, por tratarse de un método cromatográfico. En caso de valores cercanos a la desviación estándar impuesta se pueden realizar pruebas de hipótesis para determinar si el sistema es preciso a las condiciones establecidas de valores.

### **VII.4.- Repetibilidad del método**

Ésta es una de las pruebas para determinar la precisión del método, y se define como el grado de concordancia entre determinaciones independientes de disoluciones con una concentración conocida, provenientes de una disolución madre y su análisis es realizado por el mismo analista bajo iguales condiciones de trabajo, aplicando todo el método. Los resultados no deben diferir de una  $s$  impuesta para el método por alguna instancia o institución. En caso de valores cercanos a  $s_{impuesta}$  se pueden realizar pruebas de hipótesis para determinar si el método es repetible a las condiciones aplicadas.

### **VII.5.- Reproducibilidad del método**

Ésta es la segunda prueba para determinar la precisión del método y es el grado de concordancia entre determinaciones independientes de disoluciones con una concentración conocida, provenientes de una disolución madre, donde su análisis es realizado bajo condiciones de trabajo diferentes, variando algún factor como: analistas, instrumentos, técnica de preparación de muestra, etc. La reproducibilidad se determina con la comparación de las variancias y las medias de los resultados obtenidos por el método sin cambiar algún factor vs el parámetro modificado. En caso de dudar de la aceptación de los valores de la  $s$  se pueden realizar las pruebas de hipótesis para determinar si el sistema es reproducible a la concentración que se trabajó.

#### **VII.6.- Límite de detección y cuantificación**

Se requiere conocerlos cuando se realizan mediciones de analitos a niveles traza y se definen como la menor cantidad que se puede detectar y determinar cuantitativamente con una incertidumbre asociada para un nivel de confianza dado, su valor puede estar entre 3 y 10 veces sobre la desviación estándar respectivamente.

#### **VII.7.- Procedimientos generales para la validación de algunos parámetros de desempeño para el análisis de plaguicidas organoclorados en agua por cromatografía de gases<sup>(96,97)</sup>**

Con el tiempo ha crecido la preocupación sobre el efecto tóxico que los plaguicidas tienen en las personas que están expuestas a dichos productos, en los alimentos que contienen residuos, en la contaminación de los cuerpos de agua superficial y subterránea, aire, suelo, sobre todo porque existe una correlación entre ellos. Así que no cabe duda que la calidad del medio ambiente es ya más una exigencia que un deseo, por lo que los laboratorios químicos – analíticos no pueden sustraerse de esta característica si quieren que los resultados generados sean reconocidos, aceptados y queden como la base firme para la toma de decisiones. Es por ello que durante el desarrollo del método se requiere un control de calidad cuyo objetivo es determinar las medidas de control necesario para minimizar los errores de los resultados finales, obtener veracidad, rapidez, bajo precio, etc., de los resultados generados, debido a que ellos pueden tener una amplia repercusión social y económica. Para conseguirlo, todos los aspectos del programa de muestreo análisis deben ser planeados con detalles, siendo necesario documentar todas las etapas del mismo.

Una vez que ya se realizó la validación del método, un paso importante durante el desarrollo del método es su control de calidad por ejemplo los métodos USEPA para el análisis de plaguicidas organoclorados siguen algunos de los procedimientos que se describen a continuación, según convenga, y se ejecutan como mínimo una vez con cada lote de muestra y por lo menos una vez por cada 20 muestras analizadas.

- ❖ **Valoración de Muestras inyectadas (“spikes”):** se realiza con una alícuota de la muestra ambiental que contiene el analito en estudio, a la cuál se le adiciona una cantidad igual o mayor del analito presente, se analiza y se calcula el porcentaje de recobro, se debe tener en cuenta la cantidad inicial presente del analito en la matriz. El fin es determinar si la matriz tiene efecto sobre los resultados y si es así, determinar la extensión del error sistemático debido a la misma o a las interferencias en la recuperación del analito.
- ❖ **Análisis de blancos de campo, de viaje, de laboratorio y de reactivos:** se lleva a cabo con una muestra de agua al que se le adiciona el estándar interno y el compuesto “surrogado” (compuesto que es improbable que se encuentre en la muestra), la cual es tratada igual que la muestra problema. El objetivo es determinar si esta presente el analito de interés u otras interferencias en el material, en reactivos, en los instrumentos así como en el ambiente del laboratorio.
- ❖ **Valoración del cumplimiento de calidad por parte del laboratorio por medio del análisis de blancos fortificados de laboratorio:** a una muestra de agua (destilada) se le agrega el analito o analitos de interés para que de una concentración 10 veces mayor al límite de detección (LD) y se calcula el recobro que debe ser  $R \pm 3S_R$ . El propósito es determinar si la metodología está bajo control, si las mediciones son exactas y precisas en el LD requerido, en caso de que el recobro del analito este fuera de control se debe identificar la fuente del problema y resolver antes de continuar con el análisis.

- ❖ **Valoración de muestras de contraste:** el 10% de las muestras deberán ser tomadas por duplicado para su análisis en un segundo laboratorio acreditado para la cuantificación de los analitos de interés, con objeto de comprobar los resultados y servir de ejercicio inter-laboratorio que garantice la exactitud de los resultados. Cuando la diferencia entre ambos resultados sea significativo se deberá estudiar en detalle las técnicas analíticas utilizadas por cada uno de los laboratorios.
- ❖ **Valoración del sistema preparación de muestra (extracción si es el caso):** se debe comprobar la optimización del sistema para obtener una máxima recuperación de analito por medio del uso de estándares del analito de interés.
- ❖ **Valoración del sistema instrumental (calibrado):** en un sistema cromatográfico para el análisis cualitativo se utilizan estándares de los analitos de interés y se comparan sus tiempos de retención ( $t_r$ ) vs la muestra. En el análisis cualitativo se realiza por medio de una curva de calibración como el de estándar interno donde se debe monitorear el área o altura en la respuesta del estándar interno (EI), cuya desviación por cada inyección que contenga EI no debe ser mayor al 30%, si sobrepasa este porcentaje hay que optimizar el cromatógrafo y revisar que el valor de la concentración del estándar de calibración no varíe más del 20% con respecto al valor esperado. Para determinaciones por cromatografía de gases/ espectrometría de masas el espectro del analito deberá ajustarse a la representación bibliográfica del mismo; para la calibración de espectrómetro de masas se utiliza un compuesto de calibración donde la abundancia y representación debe ser la especificada para el equipo de masas y posteriormente utilizar otro compuesto para la calibración del acoplamiento del cromatógrafo de gases y el espectrómetro de masas.

# **CAPÍTULO IV**

## **CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

- Compuestos como el DDT, Aldrin, Chlordano, Dieldrin, Endrin, Heptacloro se encontró que están dentro de la lista de la Convención de Estocolmo como compuestos de uso restringido debido a que presentan una elevada toxicidad, son persistentes en el suelo, poseen una gran estabilidad, son semivolátiles, presentan afinidad por los tejidos grasos y se bioacumulan a lo largo de la cadena trófica, es por ello que existe la tendencia a que se elimine su uso completamente o por lo menos en algunos países como Estados Unidos de Norteamérica y los que pertenecen a la Unión Europea tienen reglas y regulaciones para el uso de estos compuestos. Por ejemplo, se encontró que en Europa la presencia de plaguicidas en el agua para consumo humano está establecida a una concentración máxima de  $0.1 \mu\text{gL}^{-1}$  por plaguicida y de  $0.5 \mu\text{gL}^{-1}$  para totales, por su parte los Estados Unidos de Norteamérica ha establecido diferentes regulaciones para distintos plaguicidas. Mientras que en México la norma NOM-127-SSA1-1994 es la que regula los límites permisibles de algunos plaguicidas en agua para su potabilización<sup>(92)</sup>.
- En este proyecto se explicaron primero las metodologías generales establecidas para el análisis de plaguicidas organoclorados en agua y después de la documentación se encontró que las etapas que los constituyen se pueden simplificar a 7 si tomamos como base a los métodos USEPA, siendo estos:
  - a) Identificación del problema analítico.
  - b) Elección del método a utilizar.
  - c) Muestreo.
  - d) Preparación o Tratamiento de la Muestra.
  - e) Procedimiento analítico.
  - f) Técnica de determinación.
  - g) Evaluación de resultados e informe.
- La Identificación del problema analítico y elección del método a utilizar son los soportes para considerar las variantes que se desea resolver con el método; la matriz a trabajar, tipo de muestreo, el sistema o técnicas analíticas a aplicar para resolver el problema, valores estadísticos esperables (como límites de detección, etc.), y el aseguramiento de la calidad de los datos, etc.; estas etapas son importantes porque ayuda a decidir la forma de trabajo de acuerdo con los intereses que se buscan cumplir, incluyendo si se puede ahorrar tiempo y dinero para el trabajo. En general se encontró que la mayoría de los métodos estándar, oficiales y de artículos científicos revisados presentan estas etapas muy bien especificadas.
- Sin lugar a dudas se observó que el muestreo es el paso más importante en un análisis químico si el dato se va a relacionar con la zona original que se muestreo, ya que si ésta no es tomada de forma apropiada, no tiene ningún sentido químico, ni económico el realizar los análisis planteados. En esta etapa se encontró que existen una serie de operaciones que hay que considerar como:
  1. Plan de muestreo.
  2. Colecta de la muestra.
  3. Transporte y conservación.
  4. Recepción y almacenamiento.
  5. Cadena de custodia.
- La cadena de custodia es muy importante con el fin de asegurar que la recolección de muestras es representativa de la población a estudiar y del lugar donde se muestrea, por

ende se deben tener controles de calidad estrictos para la toma, y de esta forma se evita la detección de falsos positivos.

- En la actualidad existe una gran cantidad de material que se vende por catálogo para la recolección de las muestras acuosas que ayudan a tener un mejor control durante su toma. Se encontró que los métodos estándar y oficiales para el análisis de los plaguicidas organoclorados si especifican la forma y la serie de actividades que realizan durante el muestreo, a si como las precauciones que hay que tomar, algunos método de la USEPA y ASTM presentan en un documento separado estas indicaciones, y para el caso de los pesticidas organoclorados, en general coinciden en que una vez tomada la muestra se debe eliminar el cloro residual agregando  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , para retardar la degradación microbiológica disminuir el  $\text{pH} < 2$  (es importante seguir este orden), conservar a  $4^\circ\text{C}$ , alejada de la luz, no dejar espacio libre dentro del contenedor. El tiempo de conservación de la muestra es de 14 días, excepto el heptacloro, el cual si se desea analizar debe ser dentro de los primeros 7 días.
- Por otro lado en la documentación de publicaciones periódicas como los artículos se encontró que éstas reportan escasa información acerca de la forma en que recolectaron sus muestras, de las precauciones y controles que llevaron a cabo.
- En la etapa de preparación o tratamiento de la muestra se hace la verificación (antes de trabajar) de las condiciones en que se encuentra la muestra después de su recolección y debido a que algunas de ellas puede ser muy compleja como en las de agua residual, y se requiere la eliminación de los sólidos suspendidos. La mayoría de los métodos oficiales no enfatizan este paso debido a que ellos especifican que para desarrollar el método se requiere de personal calificado y los métodos de artículos científicos por lo regular no lo mencionan.
- Durante la revisión bibliográfica se observó que el procedimiento analítico es el que ha presentado mayores cambios en la última década y por lo que se leyó es la que se seguirá desarrollando en el futuro. Básicamente se encontraron para el análisis de plaguicidas organoclorados en agua que se usan las siguientes técnicas:
  - I. Extracción líquido-líquido.
  - II. Extracción en fase sólida.
  - III. Microextracción en fase sólida.
  - IV. Extracción por adsorción con barra magnética.
- La extracción líquido-líquido es la técnica indicada en una gran cantidad de métodos estandarizados, oficiales, para validación y en artículos de revistas, se cuenta con bastante información en la literatura así como de métodos en que se aplica, no requiere de aparatos especiales para trabajarla, se utilizan disolventes comunes de uso en el laboratorio y ha simplificado el problema para la determinación del contenido total de plaguicidas no polares en aguas que tienen un contenido alto de sólidos suspendidos. Pero presenta desventajas como el uso de grandes volúmenes de disolventes (en el orden de por lo menos 100 mL), generando cantidades importantes de residuos lo que hace que sea una de las técnicas aplicadas de mayor contaminación, se pueden generar emulsiones entre las fases utilizadas y extrae otros contaminantes no polares que estén presentes en la muestra, por lo que posteriormente es necesario un proceso de limpieza para eliminar a los compuestos que interfieran en la determinación de los plaguicidas. La limpieza es un paso crucial que se debe considerar si la muestra acuosa es compleja, ya que durante la

ELL se pueden coextraer grasas, proteínas y los compuestos orgánicos que constituyan a la muestra.

- Se encontró que la extracción en fase sólida es la segunda técnica más utilizada en los métodos estandarizados, oficiales, y artículos publicados, aunque en menor proporción comparada con la ELL. Presenta ventajas como la reducción del consumo de disolventes tóxicos, lo que hace a la técnica segura, disminuye la necesidad de evaporación de los disolventes, la técnica es automatizable, se tiene la posibilidad de variar la forma de trabajo dependiendo del objetivo de análisis (extraer y preconcentrar, limpiar, cambio de matriz, etc.). Entre las desventajas que podemos puntualizar es que requiere una serie de pasos para el acondicionamiento de la fase sólida, además de que se debe optimizar el proceso considerando diferentes factores como: la adecuada selección del adsorbente, escoger un disolvente adecuado para acondicionar a la columna y otro para la elución de los analitos, la variación del pH, el efecto de la adición de sal a la muestra, optimizar la velocidad de flujo de elución, escoger una correcta capacidad de carga. Todas estas consideraciones pueden hacer que la técnica resulte un poco más complicada de lo que aparenta, y aunado a esto si la matriz de la muestra resulta ser compleja (por ejemplo, agua residual) antes de usar esta técnica se requiere una limpieza gruesa de la matriz, de otra forma se tendrá mucha interferencia por parte de los compuestos que no son de interés e incluso se puede dar el impedimento del uso de la EFS. En general se encontró que la ELL y EFS son técnicas muy usadas para extraer cantidades menores de  $0.1 \mu\text{gL}^{-1}$  de contaminantes orgánicos por los que son técnicas que ayudan la extracción de plaguicidas organoclorados para su posterior análisis y de esta forma asegurar la calidad del agua para consumo humano, según la legislación Europea.
- Por otro lado se observó que la tendencia de las técnicas de preparación de muestras busca que sean más rápidas, más sensibles, que se reduzca el trabajo manual, es por ello que una técnica que ha tenido un gran auge entre las publicaciones de artículos de revistas científicas en la última década es la microextracción en fase sólida, la cual se ha empleado principalmente para la extracción de compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles como los plaguicidas. La MEFS ofrece la completa eliminación del uso de solventes durante la extracción, reporta niveles de detección altos del orden de nanogramos, sirve para hacer una inspección rápida de los compuestos antes mencionados, presenta versatilidad en su modo de trabajo (inmersión directa, vapor confinado, protección con membrana) lo que permite su uso en diversas matrices, por ejemplo se encontró que algunos artículos reportan su aplicación en muestra de aguas residuales, agua de mar, agua subterráneas; otra ventaja es que se puede usar de manera directa sin hacer una limpieza previa de la muestra y se realiza de manera simultánea a la extracción y la concentración de los analitos de interés. Otra ventaja que tiene esta técnica es su acoplamiento con cromatografía de gases y su uso para varios muestreos antes de desecharla. A pesar de parecer una técnica fácil de usar se deben considerar algunos factores para su optimización los cuales son: la elección del adsorbente, la variación del pH, el efecto de la adición de sal a la muestra, considerar el tiempo y la forma de la agitación, la temperatura de extracción y de desorción, el tiempo de extracción y desorción y la limpieza de la fibra; por lo que al igual que la EFS la técnica resulta un poco más complicada de lo que aparenta. Existe la posibilidad de tener problemas con la fibra debido a que ésta es frágil y se puede romper con mucha facilidad, o en caso de exceder la temperatura óptima de trabajo especificada por el proveedor se puede tener un daño irreparable sobre la fibra, también otro problema que puede tener es la acumulación de impurezas en la fibra que algunas veces son difíciles de eliminar, la

muestras con sólidos suspendidos si se analiza por inmersión directa la fibra se puede dañar por la agitación, los compuestos de alto peso molecular como los ácidos húmicos y las proteínas se pueden adsorber de forma irreversible sobre la superficie de la fibra. Por los factores que hay que optimizar y los problemas mencionados arriba pueden ser las razones por la que esta técnica tenga baja reproducibilidad y algunas veces linealidad pobre, debido a esto la MEFS es una técnica que todavía no se encuentra en métodos estandarizados, ni oficiales pero si en muchos artículos científicos, también su costo puede ser otro factor a considerar.

- Otra técnica novedosa que se encontró para la determinación de plaguicidas organoclorados en agua es la extracción por adsorción con barra magnética la cual se basa en los mismos principios que la MEFS, la diferencia es que el dispositivo para MEFS consiste en una barra de acero inoxidable semejante a una aguja dentro de la cual está la fibra de sílice fundida recubierta en su parte externa con una capa relativamente delgada (del orden de 0.5  $\mu$ l) de polidimetilsiloxano (PDMS) u otra fase. Mientras que la EABM es una barra magnética recubierta de PDMS del orden de 50-300  $\mu$ l de éste, debido a la mayor cantidad de fase adsorbente con la EABM se pueden alcanzar límites de detección más bajos (intervalo de sub-ng/L a ng/L) comparado con MEFS (ng/L). Al ser una técnica con los mismos principios que MEFS se requiere la optimización para la extracción y presenta los mismos problemas antes mencionados; la EABM requiere de un equipo especial para su desorción el cual se acopla al equipo de análisis en este caso a cromatografía de gases, por lo que el costo de la técnica es mucho mayor comparado con la ELL y la EFS. La EABM es una técnica que aún no se encuentra en métodos estandarizados y oficiales debido a su baja reproducibilidad, entre otros factores.
- El procedimiento analítico cualitativo y cuantitativo más común para la determinación de plaguicidas en todos los métodos revisados lo constituye el empleo de la cromatografía de gases, debido a que se aprovechan las propiedades de los plaguicidas como su semivolatilidad. Para el análisis de plaguicidas de estos compuestos se encontró que usan columnas de tendencia no polar, de dimensiones que pueden ir desde 50-60 m de longitud x 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu$ m de grosor de película de la fase estacionaria, con modo de inyección “splitless”. Los detectores más empleados fueron el DCE y EM debido que algunas veces se requiere la identificación y cuantificación de los plaguicidas en cantidades del orden de las trazas. En la revisión de artículos científicos se reporta más el acoplamiento de las técnicas de preparación de la muestra como EFS, MEFS, EABM al cromatógrafo, mientras que en métodos estandarizados y oficiales aun no se reportan.
- Al hacer la revisión bibliográfica de los métodos se observó que el desarrollar un método para determinar plaguicidas organoclorados en agua no es nada fácil debido a que se requiere de una serie de pasos que hay que estimar y la etapa final es la validación del mismo donde se examinan los parámetros de desempeño del método para identificar y establecer cualquier limitación que pueda esperarse; se encontró que algunos de los parámetros que se evalúan principalmente en un método normalizado u oficial para la determinación de plaguicidas organoclorados que usan cromatografía de gases son: condiciones óptimas de trabajo, linealidad, precisión, reproducibilidad y repetibilidad del método, exactitud, cantidad mínima detectable, tolerancia del sistema, estabilidad de la muestra, robustez, etc. Por otro lado se observó que los artículos científicos que usan nuevas técnicas de preparación sobre todo la MEFS y la EABM para la determinación de plaguicidas organoclorados solo cumplen con algunos de los parámetros antes



mencionados. La validación resulta necesaria si queremos que los resultados generados sean reconocidos, aceptados y queden como la base firme para la toma de decisiones.

- Se considera que este trabajo permitirá a la persona que lo consulte darse una adecuada idea de lo que se tiene que realizar para el análisis de plaguicidas organoclorados en agua.

# **BIBLIOGRAFÍA**

1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés), home: <http://www.fao.org> (revisado enero 2009).
2. Bert L., Bohmont Ph. D., *The Standard Pesticide User 's guide*, 4<sup>a</sup> ed., Ed. Prentice-Hall, 1997.
3. Marisela Bernal González, Hilda Calderón Villagómez, *Plaguicidas en México, Algunos Métodos para Determinar Plaguicidas en Agua y Matrices Biológicas*, Vol. 2 serie: Química Ambiental de las Sustancias y Residuos Peligrosos, UNAM, Cap. III.
4. Claudio Barberá, *Pesticidas Agrícolas*, 4<sup>a</sup> ed., Ed. Omega, 1989, Cap. 1-4.
5. Imagen del ciclo de la cadena alimenticia, <http://quimorg1.blogspot.com> (revisado en febrero enero 2009).
6. CICLOPLAFEST. Comisión Intersecretarial para el control del proceso y uso de plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Secretaría del Medio Ambiente, recursos Naturales y Pesca. Secretaría de Salud. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, *Catálogo Oficial de plaguicidas*, 2004.
7. György Matolcsy, *Pesticide Chemistry*, Ed. Elsevier Amsterdam – Oxford, 1988, Cap. 3.
8. G. T. Brooks, Rober E. Krieger, *Chlorinated Insecticides, Technology and Application*, Vol. 1, Ed. Publishing Company Malabor Florida, 1983.
9. Marina Rachel Carson's, *Silent Spring*, Ed. The New Yorker, 1962.
10. CONAGUA, SEMARNAT, *Ley Federal de Derechos (Disposiciones aplicables en materia de aguas nacionales)*, 2007, ISBN 968-817-819-5, pág. 15-18.
11. E. Beceiro, *Optimization and validation of a solid-phase microextraction method for simultaneous determination of different types of pesticides in water by gas chromatography- mass spectrometry*, Journal of chromatography A114 (2007), 165-173.
12. Environmental Protection Agency (USEPA), *Pesticides Home* <http://www.epa.gov/pesticides> (revisado en febrero, 2009).
13. Pat Sandra, Riezve Soniassy, *Water Analysis, Organic Micropollutants*, Hewlett Packard, 1994, pág 4-8.

14. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 508: *Determination of Chlorinated Pesticides, in Water by Gas Chromatography with an Electron Capture Detector*, Revision 3, 1989.
15. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 525: *Determination of Organic Compounds in Drinking Water by Liquid-Solid Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/ Mass Spectrometry*, Revision 2.1,1988.
16. M. Valcárcel, A. Ríos, *La Calidad de los Laboratorios Analíticos*, Ed. Reverté, 2002, Cap. 1.
17. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, Method 8081: *Organochlorine Pesticides by Gas Chromatography*, December 1996.
18. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, section B, Chapter four- Organic Analytes, 4.2 Sample Preparations Methods, 4.2.1 Extraction and Preparations, Method 3540: *Soxhlet Extraction Permeation Cleanup*, December 1996.
19. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, section B, Chapter four- Organic Analytes, 4.2 Sample Preparations Methods, 4.2.1 Extraction and Preparations, Method 3520: *Continuous Liquid-liquid Extraction*, December 1996.
20. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, section B, Chapter four- Organic Analytes, 4.2 Sample Preparations Methods, 4.2.2 Cleanup, Method 3610: *Alumina Cleanup*, December 1996.
21. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, section B, Chapter four- Organic Analytes, 4.2 Sample Preparations Methods, 4.2.2 Cleanup, Method 3620: *Florisil Silica Gel Cleanup*, December 1996.

22. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, section B, Chapter four- Organic Analytes, 4.2 Sample Preparations Methods, 4.2.2 Cleanup, Method 3630: *Silica Gel Cleanup*, December 1996.
23. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, section B, Chapter Four- Organic Analytes, 4.2 Sample Preparations Methods, 4.2.2 Cleanup, Method 3660: *Sulfur Cleanup*, December 1996.
24. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods, SW-846, section B, Chapter four- Organic Analytes, 4.1, *Sampling Considerations*, December 1996.
25. Igor Lyška, *Pesticides in Water: Sampling, Sample Preparation, Preservation*, Encyclopedia of Separation Science, IAN D. Wilson, Academic Press, 2000, Vol. 3, Pág. 6487-6499.
26. Gabriel Periera, Marcelo Peña, *Toma de muestra, Investigación de la contaminación de suelos en la comunidad autónoma del País Vasco*, E. Book Análisis Químico, Vol. 3, 2005, Editorial Ihobe. [http://www.ihobe.net/Pags/AP/Ap\\_publicaciones/index.asp?cod=22D00942-87EA-4D23-BF89-874E182F271F&hGrupo=PUB&hAño=1998&hTitulo=006](http://www.ihobe.net/Pags/AP/Ap_publicaciones/index.asp?cod=22D00942-87EA-4D23-BF89-874E182F271F&hGrupo=PUB&hAño=1998&hTitulo=006), (revisado mayo 2009).
27. Humberto Gómez Ruiz, *Control de calidad en resultados analíticos*, Universidad Autónoma de México, 1994.
28. American Society for Testing and Materials (ASTM), Designation: D 3370-95a *Standard Practices for Sampling Water from Closed Conduits*, Annual Book of ASTM Standards, Vol. 11, 1999.
29. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 625: *Determination of Chlorinated Pesticides in Water by Gas Chromatography with an Electron Capture Detector*, Revision 3, 1981.
30. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 505: *Analysis of organohalide pesticides*

- and commercial polychlorinated biphenyl (PCB) products in water by microextraction and gas chromatography*, Revision 2, 1989.
31. Yin Chen, Zhenpeng Guo, *Simple Preparation*, Journal Of Chromatography A 1184 (2008), 191-219.
  32. Gary D., *Química Analítica*, 6<sup>a</sup> ed., Ed. Mc. Graw Hill/ Inteamericana Editores S. A. de C. V., 2009, Cap. 18.
  33. Ronald E. Major, *Guide to simple preparation*, LC-CG the magazine of separation science, Edited by Hewlett-Packard Company Wilmington Delawe.
  34. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 608: *Organochlorine pesticides and PCBs*, Revision 1, 1989.
  35. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Test Methods for Evaluating Solid Waste Physical/ Chemical Methods USEPA SW-846, Method 8081: *Chlorinated Pesticides by Gas Chromatography*, December 1996.
  36. Internacional Organization for Standardization, environmental, EN ISO 6468: Organochlorine Insecticides, 1998.
  37. United States Geological Survey (USGS), USGS O-1104-83: *Organochlorine and Organophosphorus Compounds*, Methods for the Determination of Organic Substances in Water and Fluvial Sediments, Washington D.C. 1987.
  38. United States Geological Survey (USGS), USGS O-1105-83: *Chlorophenoxy acid*, Methods for the Determination of Organic Substances in Water and Fluvial Sediments, Washington D.C. 1987.
  39. ASTM, D5812-96: *Standard Test method for Determination of Organochlorine Pesticides in Water by capillary Column Gas Chromatography*, Annual Book of ASTM Standards, Water (II), 2003, Section II, Water and Environmental Technology.
  40. American Society for Testing and Materials (ASTM), Designation: D5175-91: *Standard Test method for Organohalide Pesticides and Polychlorinated Byphenyls in Water by Microextraction and Gas chromatography*, Annual Book of ASTM Standards, Water (II), 2003, Section II, Water and Environmental Technology.

41. G. René van der Hoff, Piet van Zoonen, *Review, Trace analysis of pesticides by gas chromatography*, Journal of chromatography A 843 (1999), 301-322.
42. J. T. Baker, Solid Phase Extraction for simple preparation, 1988.
43. Dennis D. Blevins, Michael F. Burke, *Sorbent Extraction Technology Handbook*, Varian Sample Preparation Products, Edited by Nigel Simpson/ K.C. Van Horne, 2003.
44. I. Liska, *Fifty years off solid-phase extraction in water analysis historical development and overview*, Journal of Chromatography A 885 (2000), 3-16.
45. Susana Ivett Martínez Sámano, *Validación de un método de análisis de vitamina A, en hígado de res por cromatografía de líquidos de alta resolución* (CLAE), Tesis de licenciatura, UNAM, 2005.
46. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 515: *Determination of Chlorinated Pesticides, in Water by Gas Chromatography with an Electron Capture Detector*, Revision 3, 1989.
47. A.J.H. Louter, C. A. van Beekvelt, P. Cid Montanes, *Analysis of microcontaminants in aqueous samples by fully automated on-line solid-phase extraction- gas chromatography-mass selective detection*, Journal of chromatography A 725 (1996), 67-83.
48. I. Tolosa, J. W. Readman, *Comparison of the performance of solid-phase extraction techniques in recovering Organophosphorus and Organochlorine from water*, Journal of chromatography A 725 (1996), 93-106.
49. K.K Chee, M. K. Wong, H. K. Lee, *Determination of organochlorine pesticides in water by membranous solid-phase extraction, and in sediment by microwave- assisted solvent extraction with gas chromatography and electron- capture and mass spectrometric detection*, Journal of chromatography A736 (1996), 211-218
50. E. Viana, M. J. Redondo, Font, J. C. Moltó, *Disk versus columns in solid-phase extraction of pesticides from water*, Journal of chromatography A 733 (1996), 267-274.

51. C. de la Colina, A. Peña, M. D. Mingorance, *Influence of the solid-phase extraction process on calibration and performance parameters for the determination of pesticides residues in water by gas chromatography*, Journal of chromatography A 733 (1996), 275-281.
52. Wendy C. Quayle, Ivan Jepson, Ian A. Fowles, *Simultaneous quantitation of sixteen organochlorine pesticides in drinking water using automated solid-phase extraction, high volume injection, high-resolution gas chromatography*, Journal of chromatography A , 773 (1997), 271-276
53. C. Aguilar, F. Borrull, R. M. Marcé, *Determination of pesticides in environmental water by solid-phase extraction and gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection*, Journal of chromatography A 771 (1997), 221-231
54. I. Vassilakis, D. Tsiipi, M. Scoullou, *Determination of variety of chemical classes of pesticides in surface and water by off-line solid-phase extraction gas chromatography with electron-capture and nitrogen-phosphorus detection, and high-performance liquid chromatography with post column derivatization and fluorescence detection*, Journal of chromatography A 823 (1998), 49-58.
55. Almudena Columé, Soledad Cárdenas, Mercedes Gallego, Miguel Valcárcel, *Evaluation of an automated solid-phase extraction system for the enrichment of organochlorine pesticides from water*, Talanta 54 (2001) 943 – 951.
56. Basri Gülbakar, Cengiz Uzun, *Solid phase extraction of organochlorine pesticides with modified poly (styrene-divinylbenzene) microbeads using home-made solid phase extraction syringes*, Reactive and Functional Polymers 68 (2008) 580-593.
57. M. Guardia Rubio, A. Ruiz Medina, M. I. Pascual Reguera, M. L. Fernández de Cordova, *Multiresidue analysis of three groups of pesticides in washing waters from olive processing by solid-phase extraction – gas chromatography with electron capture and thermionic specific detection*, Microchemical Journal 85 (2007) 257-264.
58. Steven G. Ellis, Kees Booij, Mike Kaputa, *Comparison of semipermeable membrane device (SPMD) and large-volume solid-phase extraction techniques to measure water concentrations of 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, and*



- 4,4'-DDD in lake Chelan*, Washington, Chemosphere 72 (2008), 112-1117.
59. *Solid Phase Microextraction: Theory and Optimization of conditions*, Supelco, Bulletin 923.
60. S. Hell, S. Neunlist, P. Llopiz, A. C. Faust and S. Walter, *Importance of thermal parameters in solid-phase micro-extraction (SPME) analysis*, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol 56 (1999) 681-690.
61. György Vas, Károly Vékey. *Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis*. Journal of Mass Spectrometry, 39 (2004) 233-254.
62. Janusz Pawliszyn, *Solid-phase microextraction (SPME)*, The Chemical Educator, Vol. 2, No 4 (1997) Spring – Verlag New York, [Http://journals.springer-ny.com/chedr10.1007/s00897970137a](http://journals.springer-ny.com/chedr10.1007/s00897970137a)
63. Helena Prosen, *Solid-phase microextraction*, Trends in Analytical Chemistry, No. 4 Vol. 18 (1999) 272-281
64. Peñalver, Pocurull, Marcé, Borrul. *Solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection for the determination of pesticides in aqueous samples*. Journal of Chromatography A, 795 (1998) 105–115.
65. Abdelkader Derouiche, Mohamed Ridha Driss, Jean- Pierre Morizur, Marie- Hélène Taphanel, *Simultaneous analysis of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in water by headspace solid-phase microextraction with gas chromatography-tandem mass spectrometry*, Journal of Chromatography A, 1138 (2007) 231-243.
66. Jorge Luiz Raposo Júnior, Nilva Ré-Poppi, *Determination of organochlorine pesticides in ground water samples using solid-phase microextraction by gas chromatography- electron capture detection*, Talanta 72 (2007)1833-1841.
67. Nuno Rotola, Lúcia Santos, Paulo Herbert, Armida Alves, *Uncertainty associated to the analysis of organochlorinated pesticides in water by solid-phase microextraction/gas chromatography – electron capture detection – Evaluating using two different approaches*, Analytical Chemical Acta 573-574 (2006) 202-208.

68. Chunzhou Dong, Zhaorui Zeng, Ming Yang, *Determination of organochlorine pesticides and their derivation in water after HS-SPME using polymethylphenyvinylsiloxane-coated fiber by GC-ECD*, Water Research 39 (2005) 4204-4210.
69. Beltran J., López F. J., Hernández F. *Solid-phase microextraction in pesticides residue analysis*, Journal of Chromatography A, 885 (2000) 389-404.
70. Anne Scheyer, Stéphane Morville, Philippe Mirabel, Maurice Millet, *Analysis of trace levels of pesticides in rainwater using SPME and GC-tandem mass spectrometry*, Anal. Bioanal. Chem. (2006) 384: 475-487.
71. Gregor Kos, Paris A. Ariya, *Determination of a wide range of volatile and semivolatile organic compounds in snow by use of solid-phase micro-extraction (SPME)*, Anal. Bioanal. Chem. (2006) 385: 57-66.
72. Gestel home: [http://www.cromlab.es/EFS\\_SGE\\_MEPS.htm](http://www.cromlab.es/EFS_SGE_MEPS.htm) (consultada agosto, 2009)
73. Pat Sandra, Erik Baltussen, Frank David, *Stir bar sorptive extraction (SBSE) applied to environmental aqueous samples*, Gerstel, App Noted 2/2000, <http://www.gerstel.com/pdf/p-gc-an-2000-02.pdf> (consultada octubre, 2009).
74. Pat Sandra, Bart Tienpont, Frank David, *Stir bar sorptive extraction (SBSE) recovery calculator: easy calculation of extraction recoveries for SBSE*, Gerste, App Noted 2/2003. <http://www.gerstel.com/pdf/RIC-an-2003-2.pdf> , (consultada octubre, 2009).
75. Nobou Ochiai, Kikuo Sasamoto, Hirooki Kanda, *A novel extraction procedure for stir bar sorptive extraction (SBSE): sequential SBSE for uniform enrichment of organic pollutants in water samples*, Gerste, App Noted 12/2008. <http://www.gerstel.com/pdf/p-gc-an-2008-12corrected.pdf> (consultada octubre, 2009).
76. Wenna Guan, Yanjuan Wang, Feng Xu, *Poly(Phthalazine ether sulfone ketone) as novel stationary phase stir bar sorptive extraction of organochlorine compounds and organophosphorus pesticides*, Journal of Chromatography A1177 (2008), 28-35.

77. Nobou Ochiai, Kikuo Sasamoto, Hirooki Kanda, *Sequential stir bar sorptive extraction for uniform enrichment of trace amounts of organic pollutants in water samples*, Journal of Chromatography A 1200 (2008) 72-79.
78. Erkuden Pérez-Carrera, Victor M. León León, Abelardo Gómez Parra, *Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry*, Journal of Chromatography A1170 (2007), 82-90.
79. V. M. León, B. Álvarez, M. A Cobollo, *Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction- thermal desorption- gas chromatography-mass spectrometry*, Journal of Chromatography A, 999 (2003), 91-101.
80. Skoog, D. Holler, F.J. Nieman, Principios de análisis instrumental, 5<sup>a</sup> ed., Ed. Mc.Graw-Hill España, 2001.
81. H. M. Mc Nair, E. J. Bonelli, *Basic Gas Chromatography* , 5<sup>a</sup> ed., Ed. Varian Instrument (1969).
82. GC Users Guide Fused Silica GC Capillary Columns, Phenomenex (catálogo).
83. Benjamin J. Gudzinowicz, *Gas Chromatographic analysis of drugs and pesticides*, Vol. 2, Ed. Marcel Dekker, INC. New York, 1967.
84. OAC, Official Methods of Analysis, 990.06, *Organochlorine Pesticides in water*, Pesticides and industrial Chemical Residues, (2005).
85. American Society for Testing and Materials (ASTM), Designation: D5818-96: *Organochlorine Pesticides*, Annual Book of ASTM Standards, Water (II), 2003, Section II, Water and Enviromental Technology.
86. What is Mass Spectrometry, American Society for Mass Spectrometry (ASMS), 2<sup>a</sup> edición (1995).

87. American Society for Testing and Materials (ASTM), Designation: D6630: ***Determination of pesticides***, Annual Book of ASTM Standards, Water (II), 2003, Section II, Water and Environmental Technology.
88. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 680: ***Determination of pesticides and PCBs in water and soils /sediment by gas chromatography /mass spectrometry***, 1985.
89. U. S. Environmental Protection Agency (USEPA), Methods and Guidance for Analysis of Water, Method 1656: ***The determination of organohalide pesticides in municipal and industrial wastewater***.
90. Adriana Ramírez Hernández, Validación de la técnica de cromatográfica de alta presión (CLAP) para la cuantificación de vitamina A, Tesis de licenciatura (UNAM), 2004.
91. Angélica del Carmen Hernández Hernández, Validación de metodologías instrumentales, Trabajo de escrito vía curso de Educación continua, 2005.
92. Norma oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua uso y consumo humano –límites permisibles de calidad y tratamiento a que se debe someter el agua para su potabilización", realización noviembre de 1995, fecha de publicación noviembre de 2000.